

Cholesterin im Urin
bei malignen Erkrankungen
besonders von Tumoren der Mamma
und des weiblichen Genitales

ALEXANDER STADLER

1980
—

Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus der II. Medizinischen Klinik, Klinikum Großhadern,
der Universität München

Direktor: Professor Dr. G. Paumgartner

CHOLESTERIN IM URIN BEI MALIGNEN ERKRANKUNGEN, BESONDERS
VON TUMOREN DER MAMMA UND DES WEIBLICHEN GENITALES



Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
an der Ludwig-Maximilians-Universität München

vorgelegt von

Alexander Stadler

aus München

München 1980



Mit Genehmigung des Fachbereiches Medizin der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. H.J. Karl

Mitberichterstatter: Prof. Dr. G. Paumgartner

Dekan: Prof. Dr. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 15.1.1980

I N H A L T S V E R Z E I C H N I S

1. EINLEITUNG	1
2. LITERATURÜBERSICHT	3
3. FRAGESTELLUNG	7
4. MATERIALIEN UND VERWENDETE METHODE	8
4.1. Materialien	8
4.1.1. Verwendete Reagentien	8
4.1.2. Gase für die GC-Analyse	9
4.1.3. Geräte und sonstige Materialien	9
4.2. Verwendete Methode	10
4.2.1. Sammelbedingungen des 24^h -Harns	10
4.2.2. Grundsätzliches zur Analysenmethode	10
4.2.3. Extraktions- und Hydrolyse-Ansätze für	
1. freies Cholesterin	11
2. Gesamtcholesterin	12
3. Kontrollserum	12
4.2.4. Gaschromatografie	13
1. Analysenbedingungen	13
2. Stamm- und Standard-Lösungen	14
3. Berechnungsformel	15
5. METHODENDISKUSSION	16
5.1. Versuche zur Methode	16
5.1.1. Extraktion	16
5.1.2. Hydrolyse	16
5.1.3. Spezifität der GC-Analyse	18
1. Wahl des Internen Standards	18
2. Versuche mit Zusätzen zum Extrakt	16
3. Massenspektrografie	18
4. Verhalten des Flammenionisationsdetektors	19
5.2. Qualitätskontrolle	20
5.2.1. Standard-Varianz	20
5.2.2. Intra-Assay-Varianz	20
5.2.3. Inter-Assay-Varianz	20
5.3. Richtigkeitskontrolle am Referenzserum	21
5.4. Vergleich der hier beschriebenen Methode mit einer Referenzmethode	21

6. DOKUMENTATION DER BEFUNDE	22
7. ERGEBNISSE DER URINCHOLESTERINMESSUNGEN	23
7.1. Kontrollkollektive	23
7.1.1. Kollektiv gesunder Frauen	23
7.1.2. Kollektiv gesunder Männer	23
7.1.3. Kollektiv "Interne Erkrankungen"	24
7.2. Patientinnen mit Tumoren des Genitaltrakts	25
7.2.1. Ovarialtumoren	25
1. Ovarialkarzinome	25
2. Benigne Ovarialtumoren	26
7.2.2. Tumoren des Corpus uteri	27
1. Endometrium-Karzinome	27
2. Sonstige maligne Tumoren des Corpus uteri	29
3. Benigne Veränderungen des Endometrium	29
4. Benigne Tumoren des Myometrium	29
7.2.3. Tumoren des Collum uteri	32
1. Karzinome der Cervix uteri	32
2. Dysplasie der Portio-Schleimhaut	33
7.3. Patientinnen mit Tumoren der Mamma	35
7.3.1. Mammakarzinome	35
7.3.2. Benigne Veränderungen der Mamma	38
7.4. Sonstige maligne Erkrankungen außer den bereits beschriebenen	39
7.4.1. Malignome der epithelialen Gewebe ...	39
1. der Atmungsorgane	39
2. des Magen-Darm-Trakts	40
3. der endokrinen Organe	40
7.4.2. Sarkome	41
7.4.3. Hirntumoren	42
7.4.4. Maligne Systemerkrankungen	43
1. Maligne Blutkrankheiten	43
2. Malignome des Knochenmarks	44
3. Malignome der Lymphknoten	45

8. DISKUSSION DER ERGEBNISSE	47
8.1. Bedeutung der Tumorerkrankungen für Morbidität und Mortalität	47
8.2. Fragestellung dieser Arbeit	48
8.3. Kritische Betrachtung der Normbereiche und der oberen Normgrenze	49
8.4. Korrelationen des Urincholesterin	50
8.5. Kritische Betrachtung der Ergebnisse	50
8.5.1. Welche Umstände außer Tumorerkrankungen führen zu einer Hypercholesterinurie?	50
8.5.2. Cholesterinurie bei malignen Tumoren allgemein	51
8.5.3. Cholesterinurie speziell bei Tumoren des weiblichen Genitale und der Mamma im Vergleich zu üblichen Screening- und Diagnostikverfahren	54
1. Ovarialtumoren	54
2. Tumoren des Corpus uteri	55
3. Tumoren des Collum uteri	57
4. Tumoren der Mamma	59
8.5.4. Vergleich der eigenen Ergebnisse mit den Ergebnissen aus der Literatur	61
8.5.5. Vergleich der Urincholesterinbestimmung mit anderen humoralen Tests	62
8.6. Überlegungen zur Bedeutung des Parameters Urincholesterin	65
8.7. Ausblick	66
8.7.1. Weitere notwendige Untersuchungen	66
8.7.2. Herkunft des Urincholesterin	67
9. ZUSAMMENFASSUNG	69
10. LITERATURVERZEICHNIS	71

1. EINLEITUNG

Krebserkrankungen liegen bekanntlich in der Statistik der Todesursachen an zweiter Stelle hinter Erkrankungen des cardio-vaskulären Systems. Ein Schwerpunkt sind daher heute die sog. "Vorsorgeuntersuchungen", die im Prinzip eine Früherkennung und -Diagnostik von malignen Tumoren darstellen.

Welche Zeichen deuten nun auf eine maligne Erkrankung hin? Auf der einen Seite stehen unspezifische Symptome, z.B. die Tumorkachexie oder eine beschleunigte BMS. Daneben stehen spezifischere Zeichen, die den Verdacht auf einen Tumor lenken: zu nennen wären hier Hormonexzesse bei Tumoren endokriner Organe, wie z.B. HCG bei Blasenmolen oder Chorionkarzinomen, der Nachweis erhöhter Serumspiegel tumorspezifischer Antigene, wie des α -Fetoprotein bei primärem Leberzellkarzinom und Teratomen oder des CEA hauptsächlich bei Tumoren des Digestionstrakts. Die meisten der humoralen Tests, auch der genannten, haben jedoch Nachteile: Auch bei anderen, benignen Erkrankungen, erbringen sie falsch positive Ergebnisse, während Frühstadien manifester Karzinome unentdeckt bleiben. Oder die mit diesen Tests eruierbaren Tumoren sind zu selten, als daß ein breiteres Screening sinnvoll erschiene. Aus den genannten Gründen beherrschen heute noch röntgenologische, nuklearmedizinische und hauptsächlich cytologisch-histologische Methoden das Feld der frühen Karzinomdiagnostik.

Trotzdem wird nach wie vor intensiv auf dem Gebiet humoraler Tumorerkennung geforscht, denn nur ein humoraler Test ermöglicht es, größere Risikopatientengruppen unkompliziert, mit einer nicht invasiven und absolut harmlosen Methode zu untersuchen und eventuell einer weiteren Diagnostik zuzuführen.

Diese Arbeit wird sich deshalb mit der Untersuchung beschäftigen, inwieweit die Bestimmung der täglichen Ausscheidung von Cholesterin im Harn einen Nutzen für die Diagnose von Tumoren, speziell solcher des gynäkologischen Fachgebietes, darstellt.

2. LITERATURÜBERSICHT

Es ist seit langem bekannt, daß Cholesterin, ein absolut hydrophobes Lipid, in Spuren im Harn Gesunder auftritt. Die strukturelle Ähnlichkeit dieses Moleküls mit einigen bekannten Carcinogenen und die besondere Rolle des Cholesterin im Tumorstoffwechsel veranlaßten BLOCH und SOBOTKA 1938 in einem Lipidextrakt eines gepoolten Urins von Krebspatienten Cholesterin zu messen (9). Sie fanden darin, verglichen mit einem Kontrollkollektiv interner Erkrankungen, eine 10-mal so große Menge und erklärten sich diese Beobachtung mit dem Zerfall von Tumorgewebe, das einen erhöhten Gehalt an Cholesterin aufweist (9). 1940 berichteten sie über Untersuchungen an Einzelsammelurinen von Krebspatienten: die Häufigkeit der Hypercholesterinurie war größer als im Normal- und Kontrollkollektiv, doch war dies kein konstanter Befund im Zusammenhang mit Tumorerkrankungen. Sie erklärten sich diese Ergebnisse mit dem Vorliegen einer wahrscheinlich begleitenden Nierenerkrankung (38). BRUGER fand 1943 bei einem Viertel seines Karzinomkollektivs eine signifikant erhöhte Cholesterinurie, wobei besonders Adenokarzinome des Rectum auffielen (11). BURCHELL, EARLE und MACLAGAN differenziierten zwischen dem Urinsediment und dem Überstand. Der Cholesteringehalt des Sediments zeigte geschlechtsspezifische Unterschiede (Frauen > Männer), der des Überstands dagegen nicht. In 10 % der Fälle mit malignen Erkrankungen fanden sie erhöhte Werte im Überstand (12).

FRICK und SPITELLER beschäftigten sich in zwei Arbeiten mit der Ausscheidung von freiem Cholesterin bei Neubildungen des Harntrakts und anderen Karzinom-Erkrankungen. Bei Prostatahyperplasie fanden sie normale, bei Blasentumoren in allen Fällen, bei 7 von 9 Prostatakarzinomen und bei 1 von 3 Nierentumoren pathologisch erhöhte Cholesterinwerte im Harn. Da sie bei den sonstigen Malignomen nur in je einem Fall von Colontumor bzw. Morbus Hodgkin erhöhte Cholesterinwerte im Harn fanden, vertraten sie die These, als Grundlage der Hypercholesterinurie müsse wohl eine Reizung der Schleimhaut der abführenden Harnwege vorliegen. Ferner behaupteten sie, "das Urincholesterin sei lose an Schleim gebunden und deshalb leicht extrahierbar" (17, 40).

Die bis hierher aufgeführten Untersuchungen ergeben ein recht buntes Bild. Sie sind von Ansatz und Methodik her derartig vielfältig angelegt, daß sie kaum vergleichbar erscheinen. Teils wurde freies, teils Gesamtcholesterin gemessen; keiner der Untersucher nahm eine Extraktionskontrolle vor. Die Bestimmung erfolgte entweder gravimetrisch nach Digitoninfällung oder colorimetrisch nach Liebermann-Burchard. Fehler entstehen unter diesen methodischen Bedingungen hauptsächlich durch im Urin vorhandene Substanzen, die sich colorimetrisch wie Cholesterin verhalten. Einen großen Fortschritt brachten die Arbeiten von VELA und ACEVEDO. Bei Studien über das Urin-Steroid-Profil in der Schwangerschaft entdeckten sie einen stets vorkommenden unbekannten Peak, den sie massenspektrografisch sicher als Cholesterin identifizieren

konnten. In Einzelproben fiel ihnen bereits auf, daß Cholesterin während der Gravidität und im Puerperium vermehrt im Harn ausgeschieden wird (43). Diesen Autoren kommt das Verdienst zu, die Gaschromatographie als quantitative Methode zur Bestimmung des Urincholesterins eingeführt zu haben, so daß mit einer relativ einfachen, schnellen und zuverlässigen Technik größere Kollektive untersucht werden können (44).

1971 starteten ACEVEDO und Mitarbeiter größere Untersuchungsreihen über die Bedeutung des Harncholesterins bei Tumorerkrankungen steroid-produzierender Drüsen und ihrer Erfolgsorgane. Da nach ihrer Meinung im Gegensatz zum Plasma das freie, also nicht veresterte Cholesterin den Hauptanteil dieses im Harn ausgeschiedenen Lipids darstellen sollte, widmeten sie diesem ihr besonderes Augenmerk.

In "Urinary Cholesterol IV" berichteten die Autoren über Untersuchungen an Patientinnen mit Neoplasien des Genitalsystems. Erhöhte Werte fanden sie bei Vorliegen einer Blasenmole, eines Chorionkarzinoms, Cervix- und Endometriumkarzinoms. Beachtenswert erscheint, daß auch in Fällen mit verdächtigem Cervicalsear, die sich später als Karzinome entpuppten, eine Hypercholesterinurie beobachtet wurde. Ein Kollektiv von Patientinnen mit verschiedenen benignen und malignen Tumoren unterschied sich dagegen ebensowenig vom Normalkollektiv wie ein Kollektiv nicht neoplastischer Erkrankungen (2).

Bei ihrer nächsten Arbeit über Hoden- und Prostata-Neoplasien fanden sie in 91 % der Fälle von Prostata-Adeno-Karzinom eine

Hyperexcretion, während Seminome mit normaler Ausscheidung einhergingen. Ein hoher Prozentsatz von Fällen mit benigner Prostata-Hyperplasie, mit verschiedenen Tumoren nicht steroid-produzierender Organe und mit nicht neoplastischen Erkrankungen (internes Krankengut) zeigte jedoch ebenfalls deutliche Mehrausscheidung von Harncholesterin. Die Autoren behaupteten, daß Männer über 45 Jahren, die nach Berichten anderer Autoren in 30 % der Fälle ein latentes Prostatakarzinom haben sollen, das Bild dieser Gruppen verfälscht hätten (3).

In "Urinary Cholesterol VI" kamen ACEVEDO und Mitarbeiter zu folgendem Ergebnis: Durch Mehrausscheidung an Urincholesterin zeichneten sich 9 von 11 Patientinnen mit inoperablem, inflammatorischem Mammakarzinom aus; aber auch im ersten Kontrollkollektiv, das Frauen mit nicht malignen Erkrankungen enthielt, lagen 16 % über der oberen Normgrenze. Zur Erklärung verwiesen die Autoren auf die möglichen Beziehungen zwischen Erkrankungen wie der Mastopathie, Milchgangspapillomatose und der Cancerogenese der Mamma (4).

1975 teilten dieselben Autoren mit, daß sie in 95 % der untersuchten Cervixkarzinome und in 93 % der Endometriumkarzinome eine Hyperexcretion von Harncholesterin beobachtet hätten (5).

Mit ihrer jüngsten Arbeit "Urinary Cholesterol VIII" veröffentlichte die Gruppe ihre Ergebnisse bei Untersuchungen an Fällen mit Ovarialkarzinomen. 94 % wiesen eine meist anapp

über der oberen Normgrenze liegende Mehrausscheidung auf, wogegen ein Kontrollkollektiv, das nicht maligne Erkrankungen der Ovarien umfaßte, sich unauffällig verhielt (6).

3. FRAGESTELLUNG

Unklar und weiterer Klärung bedürftig erscheinen jetzt folgende Punkte:

- Wie spezifisch kann der diagnostische Aussagewert einer Urincholesterinbestimmung sein bzw.
Bei welchen Tumorarten außer denen der steroid-produzierenden Drüsen und ihrer Erfolgsorgane kann Hypercholesterinurie vorkommen?
- Welche Verbesserung bringt die gleichzeitige Bestimmung von freiem und Gesamtcholesterin für die Trefferquote?
- Welche Bestimmung hat für sich allein die bessere Aussagekraft?
- Gibt es einen Zusammenhang zwischen dem Grad der Hypercholesterinurie und der Größe bzw. dem klinischen Ausbreitungsstadium der genannten Tumoren?
- Gibt es einen Zusammenhang zwischen der histologischen Qualität eines Tumors und der Hypercholesterinurie?
- Wie hoch ist die Quote der falsch positiven Befunde bei benignen Tumoren?
- Was vermag die Urincholesterinbestimmung zu leisten im Vergleich zu anderen, eingeführten Diagnostik-Methoden?

Um größere Kollektive bearbeiten zu können, war es zunächst notwendig, eine Methode zu entwickeln, die schneller und einfacher, aber auch genau so zuverlässig und hinreichend genau wie die von ACEVEDO bzw. von ALBRECHT beschriebene sein sollte.

4. MATERIALIEN UND VERWENDETE METHODE

4.1. Materialien

4.1.1. Verwendete Reagentien

- | | | |
|--|---|--|
| - Essigsäureäthylester p.a. | } | Fa. Merck & Co., Darmstadt |
| - Äthanol p.a. | | |
| - Iso-Oktan p.a. | | |
| - 0,1 n NaOH | } | Apotheke der klinischen Uni-
versitätsanstalten München |
| - 0,3 n HCl | | |
| - 3 n KOH | | |
| - 0,9 % NaCl | | |
| - H ₂ O deionisiert aus der Zentralversorgung | | |
| - Androsten-(4)-dion(3,17) | | |
| - Cholesterin für biochemische Zwecke | | |
| - Prezilip Kontrollserum Charge No. 455A | | |
| (Angabe für Gesamtcholesterin, mit enzymatischem Farbstest
bestimmt: $\bar{x}$ = 137 mg/100 ml, 2s-Bereich 118-156 mg/100 ml,
keine Angaben für freies Cholesterin), Fa. Boehringer, Mann-
heim | | |
| - Hexamethyldisilazan reinst, Fa. Selva, Heidelberg | | |

- Teststäbchen: Bili-Labstix zur Prüfung des Harns auf pH, Eiweiß, Glucose, Ketonkörper, Bilirubin und okkultes Blut im Harn. Fa. Merck, Darmstadt

4.1.2. Gase für die GC-Analyse:

- N₂: getrocknet und nachgereinigt, Fa. Linde
 - Druckluft: getrocknet und nachgereinigt
 - H₂: nachgereinigt, Fa. Linde
- } Zentralversorgung

4.1.3. Geräte und sonstige Materialien

- Gaschromatograph Perkin-Elmer Modell 900, bestückt mit Flammenionisationsdetektor
- Glassäulen: Fa. Perkin-Elmer
Länge 180 cm, Innen-Ø 2,0 mm
in Abständen von wenigen Wochen silanisiert
- Füllmaterial der Säulen: 1 % XE 60 auf Gas-ChromQ, 80-100 mesh, Fa. Applied Sciences Laboratories Inc.
- Schreiber: Perkin-Elmer Recorder Modell 56
- Hamilton Mikrospritze, 10 µl Fassungsvermögen
- Spitzgläser, zentrifugenfest
12 ml Fassungsvermögen, Länge 100 mm, Innen-Ø 15 mm
- dazu passende Kunststoffstopfen
- Glaspipetten 10 ml
- Eppendorf-Pipetten 100 µl, 1 ml
- Saugkapillaren, selbst gefertigt
- Wasserbad 45° C

- Wärmeschrank 60° C
- Laborzentrifuge (3000 rpm max.)
- Roto-Shake, Fa. Braun, Melsungen
- Whirl-Mix, Fa. Glenco

4.2. Verwendete Methode

4.2.1. Sammelbedingungen des 24^h-Harns

Während der Sammelzeit der 24^h-Urine werden die Sammelgefäße ohne Konservierungsmittel an einem kühlen Ort aufbewahrt. Besondere Verhaltens- oder Diätregeln außer den üblichen wurden nicht gefordert.

Von der Gesamtmenge wurden 10 ml in ein Probenröhrchen entnommen und bei - 18° C tiefgefroren.

Vor der Analyse wurden alle Proben mit einem Teststäbchen auf das Vorhandensein von Eiweiß und okkultem Blut halbquantitativ untersucht sowie der pH-Wert festgestellt. Proben mit Proteinurie ($> 100 \text{ mg}/100 \text{ ml} \hat{=} ++$ des Teststäbchens) und Makrohämaturie wurden für die Bestimmung nicht verwendet.

4.2.2. Grundsätzliches zur Analysenmethode

Im Gegensatz zu den gravimetrischen und colorimetrischen Methoden, mit denen früher Cholesterinbestimmungen im Urin durchgeführt wurden, stellt die Gaschromatografie bei der in Frage kommenden Größenordnung einen wesentlichen Gewinn hinsichtlich Empfindlichkeit und Spezifität dar. Die Anwendung

der Peak-Höhen-Verhältnismessung zwischen Standard und Probe oder einer mehr oder weniger einfachen Peakflächen-Integration ermöglichen es, die Methode nicht nur qualitativ, sondern auch quantitativ zu betreiben.

4.2.3. Extraktions- und Hydrolyse-Ansätze

Die Bestimmung von freiem und Gesamtcholesterin machte einen Doppelansatz nötig.

1. freies Cholesterin

In ein Spitzglas werden nacheinander pipettiert:

50 μ l Androstendion-Stammlösung ($\approx$ 5 μ g Androstendion);

7 ml Essigsäureäthylester, 2 ml Urin-Probe;

Extraktion im Rotator 30 min. bei 50 rpm;

Zentrifugation 10 min. bei 3000 rpm;

Absaugen der unteren Phase, d.h. des extrahierten Urins;

Reinigung des Extrakts durch heftiges Schütteln mit 2 ml

0,1 n NaOH;

Zentrifugation des gereinigten Extrakts wie oben;

Absaugen der unteren Phase wie oben;

Waschen des Extrakts mit 2 ml deionisiertem Wasser;

Zentrifugation und Absaugen des gewaschenen Extrakts

2-mal, um sicherzugehen, daß keine wässrige Phase zurückbleibt;

Abblasen des Lösungsmittels im Wasserbad bei 45-50° C unter strömendem Stickstoff;

Wiederauflösen des eingeeengten Extrakts mit 100 μ l Iso-
Oktan mit Hilfe des Whirl-Mix-Geräts;
der Extrakt ist nun bereit zur GJ-Analyse.

2. Gesamtcholesterin

In ein Spitzglas werden pipettiert:

7 ml Essigsäureäthylester und 2 ml Urin-Probe;

Extraktion im Rotator wie unter 1.;

Zentrifugation und Absaugen 2-mal wie unter 1.;

Einengung des Extrakts zur Trockene wie unter 1.;

Hydrolyse: Zugabe von 1 ml einer frisch hergestellten 0,3 n
Äthanolischen KOH-Lösung, anschließend 90 min. Inkubation
im Wärmeschrank bei 60° C;

Zugabe von 1 ml 0,2 n HCl, 7 ml Essigsäureäthylester und
50 μ l Androstendion-Stammlösung (interner Standard);

Extraktion 10 min. auf dem Rotator.

Die weitere Behandlung des Hydrolyse-Extrakts erfolgt wie
die des Ansatzes für freies Cholesterin nach der Reinigung
mit NaOH.

3. Kontrollserum

Parallel zu je 11 Urinproben lief ein Prezilip-Serum zur
Qualitätskontrolle der Methode mit. Es wurden 0,005 ml Re-
ferenzserum, mit 2 ml 0,9 % NaCl verdünnt, eingesetzt und
analog den Urinproben bearbeitet.

4.2.4. Gaschromatografie

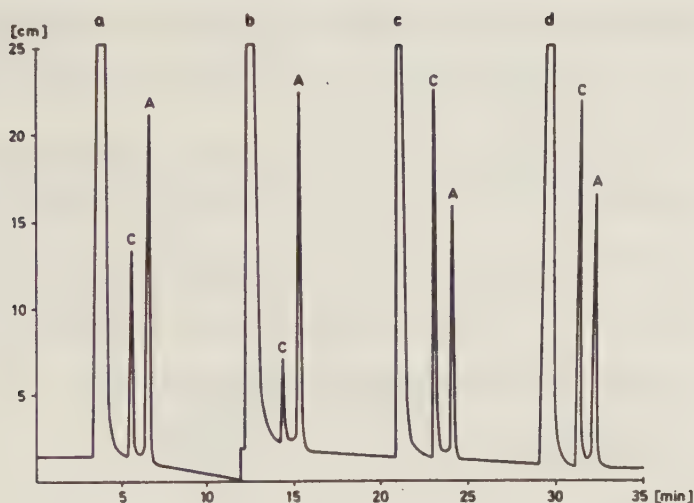


Abb.1: Gaschromatogramme der Cholesterinbestimmung im Urin
Standard: c und d; Proben: a und b
A = Androstendion; C = Cholesterin

1. Analysenkonditionen

Säulentemperatur: isotherm 230°C ($T_{\text{max.}}$ für XE 60: 250°C)

Gasflüsse: Trägergas N_2 : 35 ml/min.

Brenngas H_2 : 30 ml/min.

Luft : ~ 400 ml/min.

eingestellt jeweils mit dem Seifenblasenflowmeter

Die Flußraten wurden eingestellt gemäß einem Empfindlichkeitsdiagramm des FID in der Betriebsanleitung, und zwar nach jedem Säulenwechsel.

Unter diesen Bedingungen ergibt sich je nach Konditionierung der Säule (Alterung) eine Analysendauer je Probe von 6-9 min. Mit einer Hamilton-Mikrospritze werden je 3 μ l einer Probe 2-mal hintereinander eingespritzt (feste Einstellung durch Anschlag an der Spritze).

Vor Beginn einer Probenserie wird solange Standardgemisch eingespritzt, bis sich ein konstantes Peak-Höhen-Verhältnis eingestellt hat (i.a. nach 2-4 Injektionen). In der Mitte und am Ende einer Serie wird ebenfalls Standardgemisch eingespritzt, um sicherzustellen, daß das Peak-Höhen-Verhältnis gewahrt bleibt. Aus diesen Kurven wurden abgeleitet: ein Ratio-Mittelwert für die Berechnung und die Standard-Varianz für die Abschätzung der Qualität der Säule.

2. Stamm- und Standard-Lösungen:

Zusammensetzung der Stammlösungen und des Standard-Gemisches:

Stammlösung A: 10 mg Androstendion / 100 ml Iso-Oktan

Stammlösung C: 10 mg Cholesterin / 100 ml Iso-Oktan

Standard-Gemisch: Stammlösung A und C zu gleichen Teilen

→ 5 mg Cholesterin und 5 mg Androstendion / 100 ml Iso-Oktan

Da konstante Volumina von 3 μ l eingespritzt werden und sowohl im Standard-Volumen als auch im Proben-Volumen als zugesetzter interner Standard 5 μ g Androstendion enthalten sind, sollte der Peak des Androstendions im Chromatogramm von Standard und Probe etwa gleich hoch sein (grobe Kontrollmöglichkeit).

3. Berechnungsformel:

Die Berechnung des Gehalts der Probe an Cholesterin erfolgte nach folgender Formel:

$$\frac{V_T}{V_{Pr}} \times R_{St} \times R_{Pr} \times m_{IS} = \dots \text{mg}/24^h$$

Erläuterung: V_T = 24^h -Menge des Sammelurins

V_{Pr} = Probenvolumen (2 ml)

R_{St} = $\frac{\text{Peakhöhe Androstendion}}{\text{Peakhöhe Cholesterin}}$

ermittelt aus den Standard-Chromatogrammen von gleichen Mengen Androstendion und Cholesterin (je 0,3 µg)

R_{Pr} = $\frac{\text{Peakhöhe Cholesterin}}{\text{Peakhöhe Androstendion}}$

ermittelt aus den beiden Proben-Chromatogrammen, entsprechend 0,3 µg Interner Standard und einer unbekannten Menge Cholesterin

m_{IS} = Menge des Internen Standards in der Probe

5. METHODENDISKUSSION

5.1. Versuche zur Methode

5.1.1. Extraktion

Das Cholesterinmolekül stellt seiner Chemie nach ein nicht dissoziierendes Molekül dar. Deshalb wird ohne pH-Einstellung extrahiert. Reextraktionsversuche an extrahierten Proben zeigen eine geringe, bei einmaliger Extraktion verbleibende Restmenge von etwa 5 %. Aufgrund dieser Tatsache, die sich durch den extrem hydrophoben Charakter des Moleküls erklären läßt, wird nur einmal extrahiert. Um zu ermitteln, ob die einmalige Waschung mit 2 ml 0,1 n NaOH den Extrakt partiell zu hydrolysieren vermag, wurden 3 Ansätze, die 2,5, 5 und 10 µg Cholesterin-Ölsäure-Ester plus die übliche Menge internen Standards enthielten, dem üblichen Analysengang für freies Cholesterin unterworfen. In den Gaschromatogrammen trat kein einziges Mal ein Peak an der Stelle des Cholesterins auf.

5.1.2. Hydrolyse

Um die für die Hydrolyse nötige Zeit zu ermitteln, diene folgender Versuch (Abb.2):

Je 100 µl der Androstendion-Lösung ($\hat{=}$ 10 µg) und der Cholesterin-Oleat-Lösung ($\hat{=}$ 10 µg) wurden zusammengegeben, zur Trockene eingengt und mit 0,3 n äthanolischer KOH 5, 10, 15, 30, 45, 60, 90 min. lang bei 60° C inkubiert. Die gas-

chromatografische Messung zeigt nun, wieviel freies Cholesterin jeweils vorliegt. Bei vollständiger Hydrolyse des Esters muß entsprechend dem Molekulargewichtsverhältnis (MG Cholesterin-Oleat 668, MG Cholesterin 386, MG Ölsäure 282) 58 % der eingesetzten Menge bzw. 5,8 µg freies Cholesterin vorliegen. Wie das Diagramm zeigt, war dieser Zustand nach etwa 45 min. erreicht.

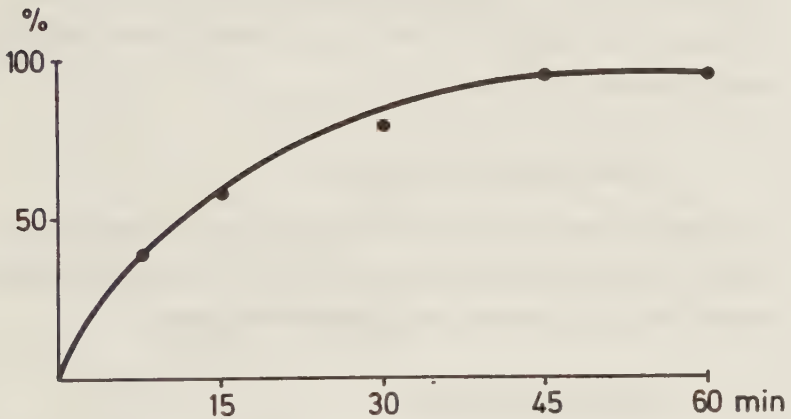


Abb.2: Kinetik der alkalischen Hydrolyse von Cholesterin-Oleat bei 60° C

5.1.3. Spezifität der GC-Analyse

1. Wahl des internen Standards

Als interner Standard wurde das Androsten-(4)-dion (3,17) gewählt, da es als intrazellulärer Metabolit nicht im Urin erscheint. In den Gaschromatogrammen mehrerer Proben ohne zugesetzten internen Standard zeigte sich dann auch an der Stelle des Androstendions kein Peak.

Die Hydrolyse des Extrakts für die Gesamtcholesterinbestimmung erfolgte ohne zugesetzten internen Standard, da sich herausgestellt hatte, daß das Molekül unter diesen Bedingungen chemisch verändert wird.

2. Zusatzversuche zum Extrakt

Zu einem Extrakt wird eine bestimmte Menge chemisch definierten Cholesterins hinzugegeben. Der Peak des Cholesterins erhöht sich entsprechend der zugesetzten Menge.

3. Massenspektrografie

Sowohl von der Reinsubstanz Cholesterin als auch von mehreren Extrakten wurden Massenspektrogramme angefertigt. Die Säulenfüllung des vorgeschalteten GC-Geräts war identisch mit der im Analysen-GC-Gerät. Die Peaks erwiesen sich als identisch. Eine quantitative Auswertung ergab eine genaue Übereinstimmung der Mittelwerte für die Menge des im Extrakt enthaltenen Cholesterins.

4. Verhalten des Flammenionisationsdetektors (Abb.3)

Auf die Einspritzung steigender Mengen Standard-Gemisches reagierte der Detektor mit einer entsprechend linearen Steigerung der Peakhöhe, und zwar über den ganzen Bereich, der für diese Messung interessant ist. Diese lineare Antwort des elektrischen Signals erlaubt die Verwendung der Peak-Höhen-Verhältnis-Messung als Grundlage der Berechnung.

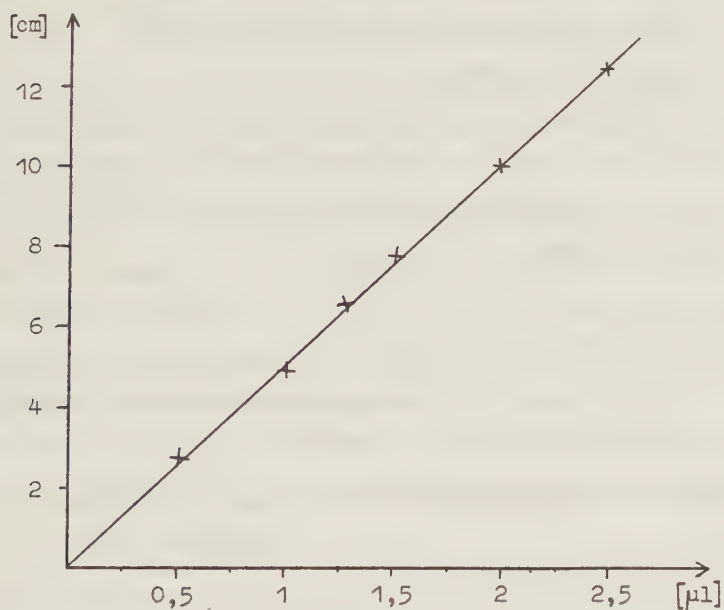


Abb.3: Linearitätskurve des Flammenionisationsdetektors

5.2. Qualitätskontrolle

5.2.1. Standard-Varianz

Der Variationskoeffizient, berechnet aus den Standard-Gemisch-Einspritzungen einer Serie, betrug bis zu 3,5 %.

Er hing von folgenden Faktoren ab:

Alter der Säulenfüllung

Silylierung des Einspritzblocks und der Säulen

Laufzeit des GC-Geräts

Die Schwankungen der Methode lassen sich vermindern durch häufigere Silylierung des Einspritzblocks, häufigeres Wechseln der Säule und Verlängerung der Einbrenndauer des Gaschromatografen.

5.2.2. Intra-Assay-Varianz

Der Intra-Assay-Variationskoeffizient, ermittelt aus 8 Ansätzen aus Kontrollserum, betrug für freies Cholesterin 2,3 %, für das Gesamtcholesterin 5,9 %.

5.2.3. Inter-Assay-Varianz

Der Inter-Assay-Variationskoeffizient, als Maß für die Schwankung der Methode über längere Zeit, ermittelt aus 20 Werten für das Kontrollserum, das parallel zur Probenserie mitbestimmt wurde, betrug für freies Cholesterin 11,2 %, für das Gesamtcholesterin 10,9 %.

5.3. Richtigkeitskontrolle am Referenzserum

Für das verwendete Prezilip[®]-Kontrollserum war kein Wert für das freie Cholesterin angegeben. Diesem Wert kommt bekanntlich keine große Aussagekraft zu, da die im Serum vorhandenen Esterasen ohnehin innerhalb kurzer Zeit den Esterquotienten verändern.

Der Wert für Gesamtcholesterin war angegeben als 2s-Bereich 118 - 156 mg/100 ml mit einem Mittelwert von 137 mg/100 ml (ermittelt mit einer enzymatisch-photometrischen Methode). Unsere mit Gaschromatografie ermittelten Werte lagen in einem 2s-Bereich von 104 - 162 mg/100 ml mit einem Mittelwert von 133 mg/100 ml.

Die gaschromatografisch gemessenen Werte für das freie Cholesterin lagen in einem 2s-Bereich von 22,2 - 37 mg/100 ml mit einem Mittelwert von 29,4 mg/100 ml. Dies bedeutet einen Quotienten von freiem zu verestertem Cholesterin von ca. 25 : 75, der glaubhaft erscheint.

5.4. Vergleich der hier beschriebenen Methode mit einer Referenzmethode

Die aufwendigere Referenzmethode, wie sie in der Dissertation von Herrn Albrecht beschrieben ist, beruhte auf folgenden Schritten:

Extraktion von 20 ml Probe im Schüttelkolben, radioaktiver Markierung mit ³H-Cholesterin zur Wiederfindungsberechnung, dünnschichtchromatografischer Reinigung des Extrakts, Derivatisierung des Cholesterins zum Trimethylsilyläther.

Zu einem Vergleich beider Methoden diente folgender Ansatz (ausgeführt mit Kontrollserum Moni-Trol[®]):

In einem 6-fach-Versuch wird das Serum in entsprechender Verdünnung nach beiden Methoden bestimmt. Für die Referenzmethode ergab sich ein Mittelwert von 46,5 mg/100 ml bei einem VK von 2,1 %, für die vereinfachte Methode ein solcher von 44,1 mg/100 ml bei einem VK von 2,6 %.

Bestimmt wurde jeweils freies Cholesterin, der Variationskoeffizient bezieht sich auf die Intra-Assay-Varianz. Beide Methoden liefern also, allerdings mit wesentlich unterschiedlichem Aufwand, gleichwertige Ergebnisse.

6. DOKUMENTATION DER BEFUNDE

Insgesamt wurden die Ausscheidung von freiem und Gesamtcholesterin bei 334 Patienten untersucht.

Für jeden Patienten wurde ein Bogen angelegt, auf dem folgende Daten eingetragen wurden:

- Name und Geburtsdatum
- Diagnose und klinische Befunde
- Anamnese
- Histologischer Befund
- evtl. Begleiterkrankungen
- evtl. Therapie

Im allgemeinen wurden die Proben vor Therapiebeginn abgenommen.

- 24^h-Urinmenge

- Teststreifenuntersuchung auf Eiweiß, Blut, pH

- Urincholesterin frei und gesamt

Das Chromatogramm wurde zum Bogen geheftet.

7. ERGEBNISSE DER URINCHOLESTERINMESSUNGEN

7.1. Kontrollkollektive

7.1.1. Kollektiv gesunder Frauen

Diese Gruppe wurde in der Dissertation von H. Wallner (45) eingehend untersucht. Sie umfaßte 70 klinisch gesunde Frauen im Alter von 18 bis 76 Jahren. Die Auswertung ergab einen 2s-Bereich der Ausscheidung von freiem Cholesterin im Harn von 0,28 bis 2,3 mg/24^h mit einem Medianwert von 0,8 mg/24^h, von Gesamtcholesterin von 0,3 bis 3,16 mg/24^h bei einem Medianwert von 0,98 mg/24^h. Dabei lag eine log-normal-Verteilung zugrunde.

7.1.2. Kollektiv gesunder Männer

Es umfaßte 67 klinisch gesunde Männer im Alter von 16 bis 73 Jahren.

Der 2s-Bereich reichte für freies Harn-Cholesterin von 0,26 bis 2,2 mg/24^h mit einem Medianwert von 0,76 mg/24^h, für Gesamtcholesterin von 0,29 bis 2,9 mg/24^h mit einem Medianwert von 0,95 mg/24^h. Die Verteilung war log-normal (45).

7.1.3. Kollektiv "Interne Erkrankungen"

Diese Gruppe, ebenfalls der Dissertation von H. Wallner entnommen, beruht auf Messungen bei 189 Patienten beiderlei Geschlechts im Alter von 16 bis 92 Jahren mit verschiedenen internen Erkrankungen, ausgenommen solche des Urogenitalsystems und Malignome.

Es ergab sich ein 2s-Bereich für freies Cholesterin von 0,23 bis 2,2 mg/24^h mit einem Medianwert von 0,71 mg/24^h, für Gesamtcholesterin ein solcher von 0,33 bis 2,76 mg/24^h mit einem Medianwert von 0,95 mg/24^h. Auch diesem Bereich liegt eine log-normal-Verteilung zugrunde.

Auf diese Weise wurde der obere Normalwert festgelegt; jeder Wert darüber wurde als pathologisch erhöht betrachtet. Die Höhe des Serum-Cholesterin-Spiegels korreliert nicht mit der Menge des im Harn ausgeschiedenen Cholesterins. Dies konnte in Arbeiten von Bruger/Ehrlich und Wallner nachgewiesen werden. Selbst in dieser Gruppe enthaltene Fälle von extremer Hypercholesterinämie fielen nicht durch Hypercholesterinurie auf. Hinsichtlich des gemessenen Parameters fanden sich keine Unterschiede bezüglich des Alters, nur geringe, jedoch nicht signifikante Unterschiede bezüglich des Geschlechts (11, 45).

7.2. Patientinnen mit Tumoren des Genitaltrakts

7.2.1. Ovarialtumoren (Abb.4)

7.2.1.1. Ovarialkarzinome

An 14 Fällen von primärem Ovarialkarzinom gemessene Werte wurden nach klinischen Stadien gemäß der Einteilung der F.I.G.O. aufgeschlüsselt und wegen der geringen Fallzahl zu zwei Gruppen, enthaltend die Stadien I und II (Tumor in einem oder beiden Ovarien mit Ausdehnung im kleinen Becken) bzw. III und IV (intraperitoneale Metastasierung bzw. Vorliegen von Fernmetastasen außerhalb der Peritonealhöhle) zusammengefaßt. Alle histologischen Formen sind dabei vertreten.

Bei der ersten Gruppe wurden folgende Werte für die Cholesterinausscheidung im Urin gemessen:

Freies Cholesterin: 0.42, 0.6, 1.7, 4.0 mg/24^h

Medianwert: 1.16 mg/24^h

Gesamtcholesterin: 0.42, 0.6, 2.6, 6.5 mg/24^h

Medianwert: 2.16 mg/24^h

Die zweite Gruppe ergab folgendes Bild:

Freies Cholesterin: 0.65, 0.7, 0.8, 0.8, 0.82, 1.54, 3.2,
5.0, 5.2, 5.4 mg/24^h

Medianwert: 1.66 mg/24^h

Gesamtcholesterin: 0.68, 0.96, 1.16, 1.41, 2.0, 3.0, 5.1,
5.3, 7.85, 8.9 mg/24^h

Medianwert: 2.56 mg/24^h

Insgesamt gesehen war also bei 36 % der Patientinnen die Ausscheidung sowohl des freien als auch des Gesamt-Harncholesterins pathologisch erhöht.

Bei den auffälligen Werten handelt es sich histologisch um zwei adenopapilläre Karzinome, ein verkrebstes Pseudomuzinkystom und zwei undifferenzierte Karzinome.

7.2.1.2. Benigne Ovarialtumoren

Bei 18 Patientinnen mit benignen Tumorerkrankungen des Ovars (Cystome, Fibrome, Corpus luteum-Cysten, ovarielle Endometrioseherde) wurden folgende Werte gemessen:

Freies Cholesterin: 0.21, 0.23, 0.29, 0.55, 0.55, 0.55,
0.63, 0.63, 0.84, 1.04, 1.09, 1.1, 1.1,
1.3, 1.3, 1.25, 1.53, 0.55 mg/24^h
Medianwert: 0.74 mg/24^h

Gesamtcholesterin: 0.29, 0.36, 0.83, 0.86, 0.92, 1.31,
1.31, 1.34, 1.5, 1.4, 1.42, 1.4, 1.65,
1.7, 1.7, 1.73, 1.73, 2.1 mg/24^h
Medianwert: 1.18 mg/24^h

Kein einziger Wert überschritt die obere Normgrenze oder lag grenzwertig.

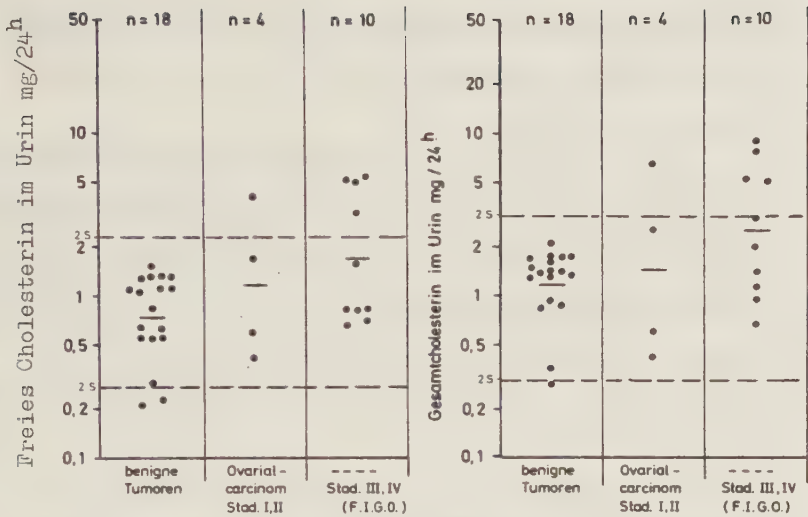


Abb.4: Ausscheidung von freiem und Gesamtcholesterin bei Patientinnen mit benignen Tumoren und Karzinomen des Ovars

7.2.2. Tumoren des Corpus uteri (Abb.5,6,7)

7.2.2.1. Endometrium-Karzinome

Von 29 Patientinnen im Alter von 50 bis 79 Jahren mit einem Karzinom des Endometrium wurde die Urincholesterinausscheidung gemessen.

Die Ausbreitung der Tumoren wurde gemäß einer Empfehlung der F.I.G.O. in vier klinische Stadien klassifiziert:

Stadium I (13 Fälle):

Das Karzinom ist auf das Corpus uteri beschränkt.

Stadium II (4 Fälle):

Das Karzinom hat das Corpus und die Cervix befallen.

Stadium III (10 Fälle):

Das Karzinom ist über den Uterus, aber nicht über das kleine Becken hinaus ausgedehnt.

Stadium IV (2 Fälle):

Das Karzinom ist über das kleine Becken hinaus ausgedehnt oder hat zweifelsfrei die Schleimhaut von Blase und Rektum befallen. Anhand der vorliegenden histologischen Befunde war es möglich, die Endometrium-(Adeno-)Karzinome nach ihrem Differenzierungsgrad aufzuschlüsseln. Zugrundegelegt wurde die Einteilung des Krebskomitees der F.I.G.O., die auch im amerikanischen Schrifttum üblich ist:

Grad 1 (15 Fälle):

Hochdifferenziertes (Adeno-)Karzinom

Grad 2 (9 Fälle):

Differenziertes Adenokarzinom mit soliden Partien (mitteldifferenziert)

Grad 3 (4 Fälle):

Vorwiegend solides oder vollständig undifferenziertes Karzinom (entdifferenziertes Karzinom).

Somit ergibt sich folgendes Bild:

St./Grad	Freies Cholesterin mg/24h	Medianw. mg/24h	Gesamt- cholesterin mg/24h	Medianw. mg/24h
St. I	0,45-14,40	1,44	0,80-15,40	2,26
St. II	1,40- 9,20	3,40	2,57-10,70	4,80
St. III	0,31-11,00	1,63	0,63-25,30	2,66
St. IV	3,10- 7,65	--	3,30-10,50	--
Gr. 1	0,63-14,40	2,28	0,80-15,40	2,99
Gr. 2	0,45-10,20	1,51	0,81-25,30	2,64
Gr. 3	0,31- 7,65	1,03	0,63-10,50	1,86

Insgesamt, über alle Stadien gemittelt, fielen 43 % durch eine Mehrausscheidung an freiem und 46 % durch eine Mehrausscheidung an Gesamtcholesterin auf.

7.2.2.2. Sonstige maligne Tumoren des Corpus uteri

Neben den genannten Adenokarzinomen fielen außerdem zwei Leiomyosarkome sowie ein maligner mesenchymaler Misch tumor zur Bestimmung an. Hier ergaben sich Werte von 1,2 und 0,95 bzw. 0,99 mg/24^h für das freie und 1,97 und 1,7 bzw. 1,84 mg/24^h für das Gesamtcholesterin, mithin also keine auffallenden Werte.

7.2.2.3. Benigne Veränderungen des Endometrium

8 Patientinnen im Alter von 38 bis 64 Jahren wiesen benigne Veränderungen des Endometrium auf. Histologisch gesehen handelte es sich um Fälle von glandulär-cystischer Hyperplasie, adenomatoide Tumoren und Polypen, Endometrioseherde im Myometrium und einen Cervixpolypen.

Hier ergab sich folgendes Bild:

Freies Cholesterin: 0.24, 0.31, 0.47, 0.48, 0.65, 0.79,
1.40, 1.60 mg/24^h

Medianwert: 0,60 mg/24^h

Gesamtcholesterin: 0.47, 0.69, 0.76, 0.98, 1.04, 1.17,
2.08, 2.66 mg/24^h

Medianwert: 1,06 mg/24^h

7.2.2.4. Benigne Tumoren des Myometrium

Untersucht wurden Harnproben von 14 Patientinnen im Alter von 38 bis 56 Jahren mit dem klinischen Befund "Uterus myomatosus".

Alle Fälle wurden histologisch als gutartig eingestuft. Nach Größe oder Verteilung der Myomknollen wurde nicht differenziert. Hier die Ergebnisse:

Freies Cholesterin: 0.23, 0.24, 0.3, 0.37, 0.38, 0.51, 0.64, 0.67, 0.76, 0.79, 0.82, 0.82, 0.9, 1.23 mg/24^h
Medianwert: 0,54 mg/24^h

Gesamtcholesterin: 0.36, 0.4, 0.47, 0.6, 0.62, 0.8, 0.82, 0.89, 1.04, 1.17, 1.33, 1.33, 2.5, 2.8 mg/24^h
Medianwert: 0,76 mg/24^h

Zusammenfassend läßt sich sagen, daß benigne Veränderungen und Tumoren des Endo- und des Myometrium nicht durch eine Mehrausscheidung auffallen.



Abb.5: Ausscheidung von freiem Cholesterin im Urin bei Patientinnen mit benignen Tumoren des Myometrium, benignen Veränderungen des Endometrium und Endometrium-Karzinomen, eingeteilt in klinische Stadien (F.I.G.O.)

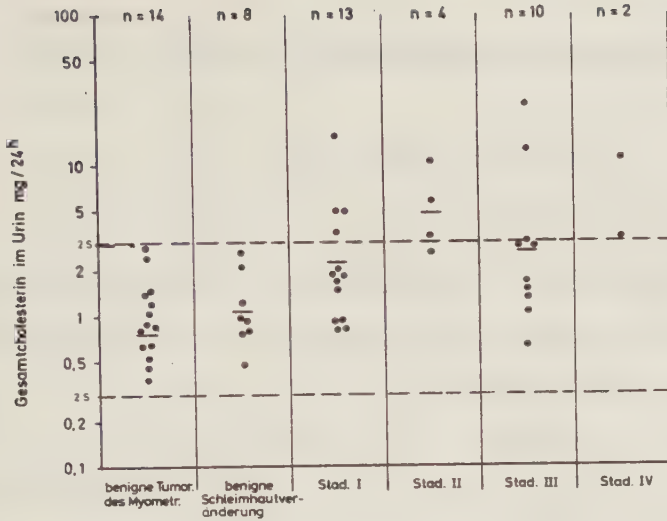


Abb.6: Ausscheidung von Gesamtcholesterin im Urin bei Patientinnen mit benignen Tumoren des Myometrium, benignen Veränderungen des Endometrium und Endometrium-Karzinomen, eingeteilt in klinische Stadien (F.I.G.O.)

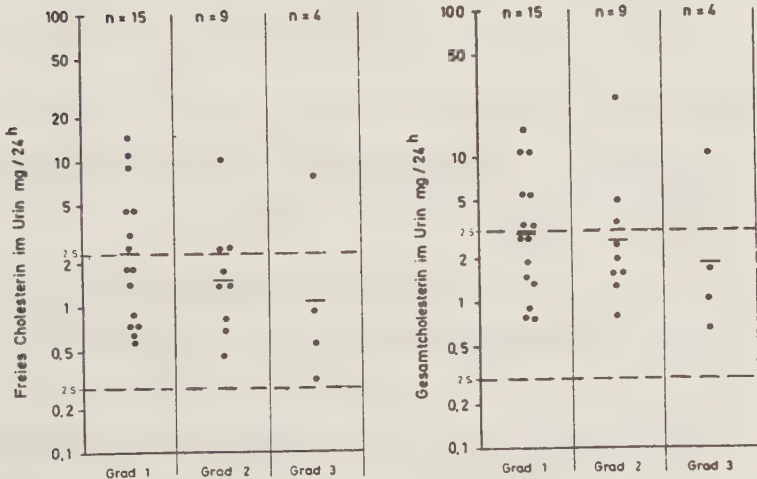


Abb.7: Ausscheidung von freiem und Gesamtcholesterin bei Patientinnen mit Endometrium-Karzinom, eingeteilt nach histologischen Differenzierungsgraden

7.2.3. Tumoren des Collum uteri (Abb.6,9,10)

7.2.3.1. Karzinome der Cervix uteri

45 Patientinnen im Alter von 29 bis 84 Jahren wiesen ein Karzinom des Gebärmutterhalses auf.

Die Tumoren wurden entsprechend einer Empfehlung der F.I.G.O. gemäß ihrer palpatorisch festgestellten Ausbreitung 5 klinischen Stadien zugeteilt:

Stadium 0, Karzinoma in situ (6 Fälle):

Präinvasives Karzinom der Cervix uteri (intraepitheliales Ca.)

Stadium I (7 Fälle):

Invasives Karzinom, auf die Cervix beschränkt

Stadium II (18 Fälle):

Das Karzinom ist über die Cervix ausgedehnt, aber nicht bis zur Beckenwand. Das Karzinom befällt die Scheide, aber nicht das untere Drittel.

Stadium III (11 Fälle):

Das Karzinom ist bis zur Beckenwand ausgedehnt. Der Tumor befällt das untere Drittel der Scheide.

Stadium IV (3 Fälle):

Das Karzinom ist über das kleine Becken hinaus ausgedehnt oder hat die Schleimhaut von Blase und Rektum befallen.

Ferner wurden die erhaltenen Werte gegen den histologischen Differenzierungsgrad der Tumoren aufgetragen. Es handelt sich durchweg um Plattenepithelkarzinome mit Ausnahme eines primär endocervicalen Adenokarzinoms.

Die Einteilung erfolgte analog dem Corpuskarzinom in 3 Grade:
Gr 1 hoch-, Gr 2 mittel-, Gr 3 nieder differenziert bis anaplastisch (Abb.9).

Für die einzelnen Gruppen ergaben sich folgende Werte:

St./Grad	Freies Cholesterin mg/24h	Medianw. mg/24h	Gesamt- cholesterin mg/24h	Medianw. mg/24h
St. 0	0,34- 3,70	1,16	0,40- 4,60	1,70
St. I	0,34- 5,55	2,00	0,95-11,90	3,02
St. II	0,10-13,60	1,32	0,10-13,60	2,10
St. III	0,90-19,10	3,12	1,59-26,60	5,60
St. IV	2,20-13,40	4,45	3,30-18,60	6,65
Gr. 1	0,10-13,40	2,22	0,10-18,60	2,92
Gr. 2	0,25- 4,70	2,05	0,36-26,60	4,23
Gr. 3	0,15- 3,70	1,40	0,56- 6,80	2,22

Über alle Stadien gemittelt, hoben sich 40 % der untersuchten Tumoren durch eine Mehrausscheidung des freien und 55 % durch eine Mehrausscheidung des Gesamt-Urin-Cholesterins ab.

7.2.3.2. Dysplasie der Portio-Schleimhaut

Daneben gelangten auch drei Proben von Frauen in einem Altersbereich von 37 bis 58 Jahren mit der Diagnose "Dysplasie" zur Untersuchung. Für sie ergaben sich folgende Werte:

Freies Cholesterin: 1.23, 2.57, 8.9 mg/24^h

Gesamtcholesterin: 2.3, 3.56, 10.1 mg/24^h

In dieser kleinen Gruppe der Atypien sind immerhin 2 von 3 Fällen positiv bezüglich der gemessenen Parameter.

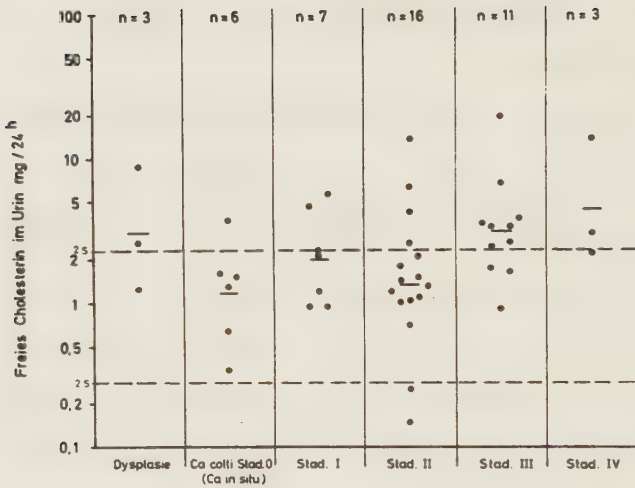


Abb.8: Ausscheidung von freiem Cholesterin bei Patientinnen mit Dysplasie der Cervix und Cervixkarzinom, eingeteilt in klinische Stadien (F.I.G.O.)

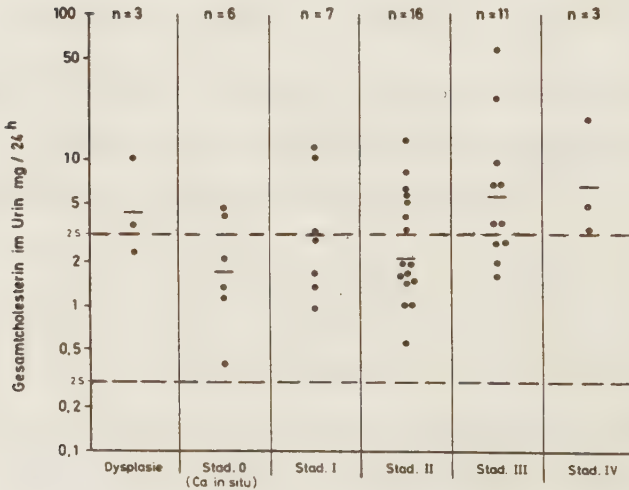


Abb.9: Ausscheidung von Gesamtcholesterin im Urin bei Patientinnen mit Dysplasie der Cervix und Cervixkarzinom, eingeteilt in klinische Stadien (F.I.G.O.)

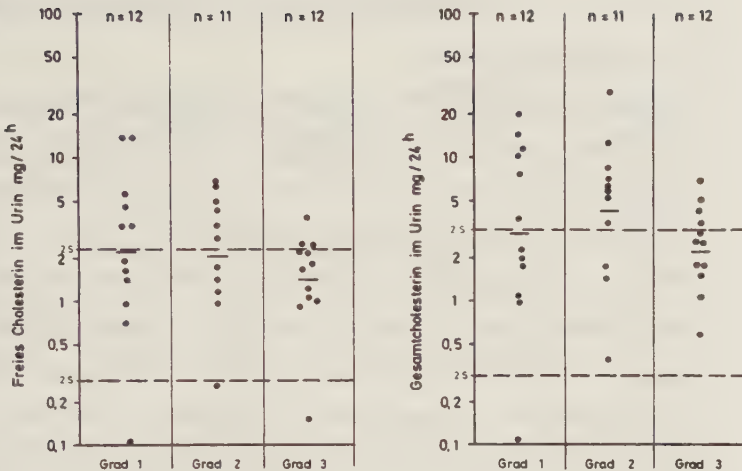


Abb. 10: Ausscheidung von freiem und Gesamtcholesterin im Urin bei Patientinnen mit Cervixkarzinom, eingeteilt nach histologischen Differenzierungsgraden

7.3. Patientinnen mit Tumoren der Mamma (Abb.11)

7.3.1. Mammakarzinome

Diese Gruppe besteht aus 82 Patientinnen, die an einem Mammakarzinom leiden. Die Einteilung in ein Stadienschema bereitete hier einige Schwierigkeiten, da keine international verbindliche Empfehlung vorliegt, die überall anerkannt ist bzw. auch praktisch gehandhabt wird. In der unendlichen Vielfalt des Wesens des Mammakarzinoms liegt der Grund für die Schwierigkeit, verbindliche Aussagen zu machen. Eine klinische Stadieneinteilung ist, vor allem für statistische Vergleiche, anders zu beurteilen als eine Gruppierung, die der

Histologe nach Einsicht des operativ gewonnenen Gewebematerials festlegen kann.

Die in Deutschland früher verbreitete Einteilung nach STEINTHAL führt dazu, daß im Stadium II eine Reihe von Tumoren eingeschlossen war, die nach Art des expansiven Wachstums ganz unterschiedliche Stadien darstellten. 1953 wurde das TNM-System eingeführt, das zwar die jeweilige Ausbreitung eines Tumors gut beschreibt, aber eine immense Aufspaltung in die Einstufung bringt. Dieser Arbeit liegt deshalb eine Einteilung entsprechend der Empfehlung des ICPR (International Comitee of Protection against Radiation) zugrunde, die sich mit dem TNM-System korrelieren läßt und folgende Gruppen umfaßt:

Stadium I (T_1Na , T_2Na) (6 Fälle):

Tumor mit der Haut nicht oder nicht voll fixiert, Brustwarze evtl. retrahiert, axilläre Lymphknoten nicht palpabel

Stadium II (T_1Nb , T_2Nb) (4 Fälle):

Primärtumor wie im Stadium I, axilläre Lymphknoten palpabel

Stadium III (T_1Nc , T_2Nc , T_3Nabc) (2 Fälle):

Vollständige Fixation des Tumors mit der Haut oder mit dem Muskel oder axilläre Lymphknoten fixiert

Stadium IV (T_1M , T_2M , T_4Nabc) (70 Fälle):

Involution der Haut, über den Tumor hinausgehend verstreute Hautmetastasen, vollständige Fixation an den Brustkorb, Fernmetastasen inklusive supraclaviculärer Lymphknoten.

Im einzelnen ergab sich folgendes Bild:

Stadium	Freies Cholesterin mg/24h	Medianw. mg/24h	Gesamt- cholesterin mg/24h	Medianw. mg/24h
St. I	0,45- 6,15	1,16	0,66- 6,15	1,41
St. II	0,47- 3,95	1,37	0,56- 5,30	1,69
St. III	0,30- 1,08	--	0,97- 1,33	--
St. IV	0,60-11,90	1,73	0,77-21,30	2,57

In der Grafik sind die Stadien I - III zusammengefaßt. Sie umfassen Tumoren ohne Metastasen im Sinne des TNM-Systems, das regionäre Lymphknotenmetastasen als N führt (bis T₃Nabc), während die zweite Gruppe nur das Stadium IV beinhaltet. Von den 12 Karzinomen der ersten Gruppe (Stadien I - III) sind 4 positiv hinsichtlich einer Mehrausscheidung der gemessenen Parameter. In der Gruppe des Stadium IV fielen 20 von 70 durch eine Mehrausscheidung des freien bzw. 25 von 70 durch eine solche des Gesamtcholesterin im Urin auf. Dies entspricht 29 bzw. 36 % Positivitätsrate. Die Medianwerte der Stadien I - III betragen 1,09 und 1,44 mg/24^h, die des Stadium IV 1,73 und 2,57 mg/24^h. Da vielfach ein histologischer Befund nicht vorlag, war eine Einteilung nach histologischen Merkmalen nicht möglich.

7.3.2. Benigne Veränderungen der Mamma (Abb.11)

In dieser Gruppe sind 13 Patientinnen mit knotenförmigen oder cystischen Erkrankungen der Brust vertreten, die differentialdiagnostisch gegenüber einem Mammakarzinom in Betracht zu ziehen sind. Ihrem Wesen nach reichen sie von eindeutiger Gutartigkeit bis zu Präcancerosen mit fakultativer maligner Entartung. Es handelt sich um Adenome, Fibroadenome, Papillome und um Mastopathien mit und ohne Proliferationstendenz bzw. Ausbildung von atypischen Zellbildern. Kein einziger der Urincholesterinwerte war auffällig oder grenzwertig; die Mediane sind 0,71 und 1,0 mg/24^h für freies und Gesamtcholesterin im Urin.

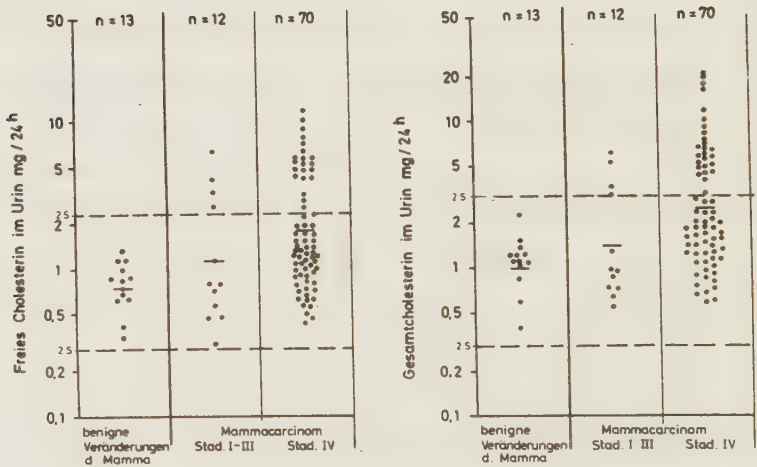


Abb.11: Ausscheidung von freiem und Gesamtcholesterin im Urin bei Patientinnen mit benignen Veränderungen der Mamma sowie Mammakarzinom, eingeteilt nach klinischen Stadien (ICPR)

7.4. Sonstige maligne Erkrankungen außer den bereits beschriebenen

Die sonstigen malignen Erkrankungen sind aufgrund der Vielfalt der untersuchten Tumoren nach organischen Funktionseinheiten zusammengefaßt. Auf eine genaue Einteilung nach klinischem Stadium und histologischem Erscheinungsbild wurde zugunsten einer einfachen Auflistung verzichtet. Die Klassifikation lehnt sich im großen und ganzen an die von EDER/GEDIGK an.

7.4.1. Malignome der epithelialen Gewebe ... (Abb.12,13)

7.4.1.1. ... der Atmungsorgane

Epipharynx-Ca.	H.J.,m.,	1,32 / 2,17 (mg/24 ^h für freies 0,8 / 0,97 und Gesamtcholesterin)
Larynx-Ca.	S.J.,m.,	0,47 / 0,90
Bronchial-Ca.	V.J.,w.,	0,35 / 0,38
	S.N.,w.,	2,30 / 2,50
	L.H.,m.,	1,97 / 2,35
	L.D.,w.,	0,62 / 0,63
	M.J.,m.,	1,32 / 2,34
	B.G.,m.,	1,05 / 1,41
	S.M.,m.,	1,96 / 3,89 ⁺
	G.F.,m.,	2,00 / 2,10

Lediglich ein Wert für Gesamtcholesterin ist leicht erhöht; die Mediane errechnen sich zu 1,1 bzw. 1,49 für freies bzw. Gesamtcholesterin.

7.4.1.2. ... des Verdauungstrakts

Mundboden-Ca.	R.H.,m.,	0,60 / 1,40
Ösophagus-Ca.	Z.J.,w.,	0,65 / 0,74
	B.K.,m.,	0,43 / 0,62
Magen-Ca.	R.A.,m.,	0,71 / 1,08
	M.M.,w.,	0,57 / 0,68
Gallenblasen-Ca.	K.M.,w.,	2,50 / 4,54 ⁺
Pancreas-Ca.	U.W.,m.,	2,06 / 3,3 ⁺
	S.A.,w.,	0,70 / 0,80
Leber-Ca.	F.A.,m.,	2,30 / 3,10 ⁺
	B.E.,m.,	0,66 / 0,81
Colon-Ca.	L.S.,w.,	0,83 / 1,15
	B.M.,w.,	3,10 / 3,76 ⁺
	S.A.,w.,	0,90 / 1,20
	W.F.,m.,	0,87 / 0,93
	Z.A.,m.,	1,11 / 2,28
	P.W.,w.,	4,03 / 9,00 ⁺
	S.F.,m.,	2,40 / 3,26 ⁺
	O.H.,w.,	1,10 / 1,90
	H.T.,m.,	0,78 / 1,20
	Ö.A.,w.,	1,47 / 1,51
	H.T.,w.,	1,12 / 1,18

In dieser Gruppe hoben sich ein Gallenblasen-, ein Leber-, sowie zwei Colonkarzinome ab. Die Medianwerte lagen bei 0,9 mg/24^h für das freie und bei 1,3 mg/24^h für das Gesamtcholesterin, über alle Tumoren dieser Gruppe gemittelt.

7.4.1.3. ... der endokrinen Organe

Struma mal.	D.T.,w.,	2,00 / 8,40 ⁺
	H.R.,w.,	1,41 / 2,07
	L.E.,w.,	0,51 / 0,72
	S.F.,m.,	0,50 / 0,70

Hoden-Ca.	M.K.,	0,82 / 2,63
	K.W.,	2,20 / 7,20 ⁺
	S.A.,	1,38 / 1,47
	B.W.,	1,20 / 1,90
	R.L.,	1,07 / 1,54
	G.H.,	0,52 / 0,96
	P.F.,	2,80 / 8,50 ⁺
	W.W.,	1,73 / 8,50 ⁺
	D.K.,	1,23 / 1,70
	K.E.,	1,70 / 3,10 ⁺
	M.S.,	2,00 / 14,20 ⁺
	D.E.,	1,40 / 2,30

Bei der Gruppe der Hodentumoren, die meist operierte Patienten enthält, imponiert nur ein Wert für das freie, dagegen 5 Werte für das Gesamtcholesterin als pathologisch.

Sowohl Teratome als auch Seminome sind hierunter.

Die Medianwerte der Gruppe errechnen sich zu 1,29 mg/24^h für das freie und zu 2,72 mg/24^h für das Gesamtcholesterin.

7.4.2. Sarkome

Hierunter sind alle malignen Tumoren der Gewebe mesenchymaler Herkunft aufgeführt.

Osteosarkom	W.F.,m.,	1,97 / 3,82 ⁺
Ewing-Sarkom	S.W.,m.,	2,20 / 3,60 ⁺
Rhabdomyosarkom	R.W.,m.,	1,20 / 1,85
Leiomyosarkom (extragenital)	K.L.,w.,	0,90 / 0,90
	G.K.,m.,	1,99 / 3,20 ⁺
	K.C.,w.,	1,06 / 2,18
	S.A.,w.,	0,99 / 1,84
	C.A.,m.,	2,20 / 2,50
	V.J.,w.,	0,92 / 1,97
	T.L.,w.,	1,20 / 1,70

Die beiden Fälle von Osteosarkom weisen mäßig erhöhte Werte auf. Die Mediane dieser Gruppe liegen bei $1,38 \text{ mg}/24^{\text{h}}$ für das freie und bei $2,18 \text{ mg}/24^{\text{h}}$ für das Gesamtcholesterin.

7.4.3. Hirntumoren

Glioblastome	T.D.,w.,	0,51 / 0,78
	W.A.,w.,	3,30 / 3,90 ⁺
	E.E.,w.,	2,90 / 4,00 ⁺ (Nierencysten!)
suprasellärer Tu.	S.A.,w.,	2,47 / 5,39 ⁺

Bei 4 Hirntumoren finden sich hier immerhin 3 mit mäßig erhöhtem Urincholesterin.

Als Medianwerte wurden errechnet: für das freie Cholesterin $1,85 \text{ mg}/24^{\text{h}}$, für das Gesamtcholesterin $2,85 \text{ mg}/24^{\text{h}}$.

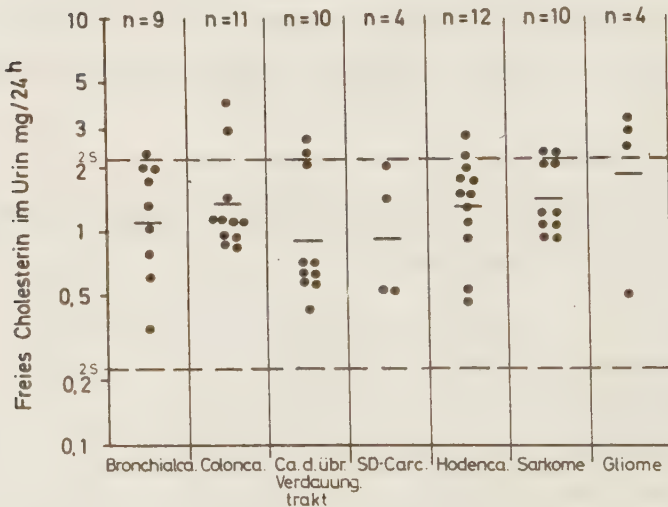


Abb.12: Ausscheidung von freiem Cholesterin im Urin bei Patienten mit sonstigen malignen Tumoren außer malignen Systemerkrankungen

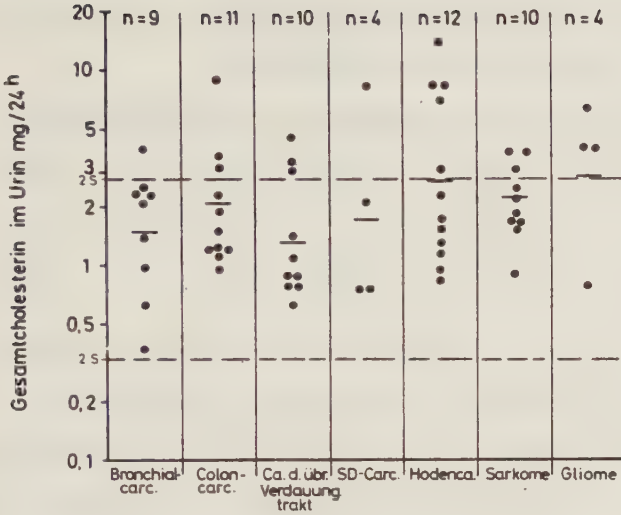


Abb.13: Ausscheidung von Gesamtcholesterin im Urin bei Patienten mit sonstigen malignen Tumoren außer malignen Systemerkrankungen

7.4.4. Maligne Systemerkrankungen (Abb.14)

7.4.4.1. Maligne Blutkrankheiten

Chronisch-myeloische Leukämie:

B.H.,w.,	0,30 / 0,42
R.H.,m.,	0,45 / 0,65
M.R.,m.,	0,49 / 0,85
S.J.,m.,	1,90 / 5,10 ⁺
S.K.,w.,	3,30 / 3,40 ⁺
K.J.,w.,	1,10 / 1,12
H.J.,m.,	0,75 / 0,75
R.H.,m.,	0,32 / 0,63
M.A.,w.,	2,60 / 13,20 ⁺
L.K.,m.,	2,10 / 4,00 ⁺
D.M.,m.,	1,28 / 2,34
K.E.,w.,	4,80 / 9,40 ⁺

Die Mediane der CML betragen 1,11 mg/24^h für das freie und 1,98 mg/24^h für das Gesamtcholesterin. Von 12 Werten lagen 3 bzw. 5 jenseits der oberen Normgrenze.

Undifferenzierte (akute) Leukämien (Blastenleukämien):

G.K.,m.,	0,45 / 0,48
N.M.,w.,	3,10 / 3,30 ⁺
B.L.,m.,	4,70 / 5,30 ⁺
M.A.,w.,	3,83 / 4,44 ⁺
B.M.,m.,	3,76 / 4,42 ⁺

Von den 5 gemessenen Proben fielen also 4 durch eine Erhöhung beider Parameter auf. Die Mediane ergaben sich zu 2,39 mg/24^h für freies und 2,93 mg/24^h für Gesamtcholesterin. Ferner kam die Probe eines Patienten mit einer monocytären Leukämie zur Bestimmung; es ergaben sich mit 3,60 / 5,03 mg/24^h ebenfalls pathologische Werte.

7.4.4.2. Malignome des Knochenmarks

Hier sind die beiden eventuell mit einer Paraproteinurie einhergehenden Krankheitsbilder des Multiplen Myeloms und der Makroglobulinämie Waldenström subsummiert.

Multipl. Myelom:	B.M.,w.,	0,72 / 1,03
	S.V.,w.,	0,73 / 0,77
	B.T.,m.,	2,00 / 2,20
	P.G.,m.,	4,07 / 5,11 ⁺
	S.J.,m.,	1,00 / 1,34
	E.J.,m.,	2,98 / 5,18 ⁺
	A.A.,m.,	1,37 / 1,42
	B.A.,m.,	0,31 / 1,26
	W.G.,m.,	0,53 / 0,91
	Z.R.,m.,	2,40 / 3,60 ⁺
	S.K.,m.,	1,80 / 2,38
	S.M.,w.,	1,80 / 2,21

M. Waldenström:	B.R.,w.,	1,20 / 1,88
	L.K.,m.,	4,30 / 5,10 ⁺
	G.E.,w.,	1,10 / 1,30
	A.H.,m.,	1,78 / 3,50 ⁺

Die Gruppe des Multiplen Myeloms enthält also 5, die des Plasmocytoms 2 Mehrausscheider an Urincholesterin.

Die Mediane der gesamten Gruppe lagen bei 1,78 für das freie und bei 2,57 mg/24^h für das Gesamtcholesterin.

7.4.4.3. Malignome der Lymphknoten

In dieser Gruppe fand die klinisch eingeführte Klassifikation in Hodgkin- und Non-Hodgkin-Lymphome Anwendung.

M. Hodgkin:	S.P.,m.,	0,48 / 0,75
	S.H.,m.,	8,80 / 12,30 ⁺
	H.M.,w.,	0,90 / 2,73
	K.F.,m.,	0,62 / 0,76
	K.T.,w.,	1,20 / 1,80
	A.G.,m.,	1,70 / 2,60
	L.J.,w.,	0,80 / 2,30
	M.A.,w.,	1,43 / 1,81
	K.L.,w.,	0,51 / 0,81
	W.M.,w.,	1,55 / 2,20
	U.C.,w.,	0,28 / 0,42
	S.A.,w.,	0,75 / 1,40
	H.K.,w.,	0,59 / 0,63
	S.S.,w.,	2,30 / 2,30

Ein Wert fällt deutlich aus dem Rahmen; ansonsten erscheint die Gruppe unauffällig. Medianwerte: 1,0 mg/24^h für das freie und 1,57 mg/24^h für das Gesamtcholesterin.

Non-Hodgkin-Lymphome:

Retikulosarkom:	B.B.,m.,	0,92 / 1,00
	S.B.,m.,	0,75 / 2,04
Lymphosarkom:	S.V.,m.,	0,35 / 0,49
M. Brill-Symmers:	C.H.,w.,	2,10 / 3,00

Bei dieser Gruppe ist kein Wert auffällig oder grenzwertig.
Für die Mediane fanden sich Werte von 1,38 mg/24^h für das freie und 1,80 mg/24^h für das Gesamtcholesterin im Urin.

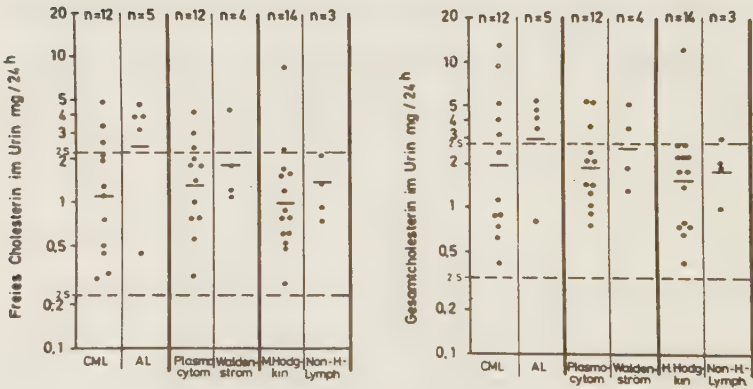


Abb.14: Ausscheidung von freiem und Gesamtcholesterin im Urin bei Patienten mit malignen Systemerkrankungen

8. DISKUSSION

8.1. Bedeutung der Tumorerkrankungen für Morbidität und Mortalität

Im Jahr 1975 starben in der Bundesrepublik Deutschland über 150.000 Menschen an bösartigen Neubildungen. 6 von 1000 Menschen erkranken jährlich neu an Krebs.

20 % aller Todesfälle sind Krebstodesfälle

26 % erkranken irgendwann an Krebs

9,4 % aller Krebstodesfälle sind gynäkologische Krebse

20 % aller weiblichen Krebstodesfälle betreffen die Genitalorgane

13,5 % aller weiblichen Krebstodesfälle betreffen die Brust

→ 33,5 % aller weiblichen Krebstodesfälle sind Genital- und Mammakarzinome (22).

Hält man sich diese Zahlen vor Augen, erkennt man die Bedeutung der Malignome und speziell der Malignome der Frau. Nur die cardio-vaskulären Erkrankungen spielen heute eine noch größere Rolle. Während man letzterer Gruppe von Erkrankungen aber prophylaktisch sehr gut begegnen kann, hilft bei den Malignom-Erkrankungen nur eine rechtzeitige Erkennung einer bestehenden Erkrankung und frühzeitiger Therapiebeginn weiter. Daraus wird die große Bedeutung von Screening-Tests ersichtlich.

Da ein Suchtest große Gruppen mit erhöhtem Tumor-Risiko erfassen soll, muß er gewisse Anforderungen erfüllen: das Verfahren soll praktikabel, d.h. zumutbar und nicht invasiv sein sowie bei geringen Kosten eine hohe Rate an "Treffern" bei möglichst wenig falsch positiven Ergebnissen aufweisen.

8.2. Fragestellung dieser Arbeit

Zweck der Untersuchungen, über die hier berichtet wird, war, die Bedeutung der Ausscheidung von Cholesterin im Urin bei Tumoren im allgemeinen und bei den spezifischen Tumoren der Frau im besonderen darzustellen. Sie sollten informieren über die Trefferquote bei einzelnen Tumorarten sowie Aufschluß bringen, ob bei den speziell untersuchten Tumoren des weiblichen Genitale und der Mamma eine Abhängigkeit von klinischem Stadium und histologischer Differenzierung erkennbar ist. Da die Arbeiten von WALLNER, ALBRECHT und PICKEL ebenfalls auf gaschromatografischen Bestimmungen beruhen, ist ein Vergleich der untersuchten Gruppen direkt möglich, im Gegensatz zu Arbeiten aus der Literatur, die auf verschiedenen älteren Methoden beruhen. Da gleichzeitig zwei Parameter, nämlich die Ausscheidung von freiem und Gesamtcholesterin im Urin untersucht wurden, war es auch möglich, den "besseren" Parameter, d.h. denjenigen mit der höheren Positivitätsrate zu ermitteln.

8.3. Kritische Betrachtung der Normbereiche und der oberen Normgrenze

Die Frage des Normbereichs bzw. der oberen Normgrenze ist von fundamentaler Bedeutung, um Mehrausscheidung und einen positiven Wert klar definieren zu können. In der eingangs beschriebenen Literatur finden sich verschiedene Angaben: GÉRARD gibt die tägliche Ausscheidung zu etwa 0,25 mg, GRUNKE zu ungefähr 1 mg an (19,20). GARDNER und GAINSBOROUGH fanden Werte zwischen 1,8 und 2,7 mg/24^h Gesamtcholesterin (16). BUTENANDT errechnete aus der Bestimmung eines Pool-Urins eine tägliche Ausscheidung von 0,7 - 1 mg/24^h (13). BLOCH und SOBOTKA extrahierten aus 100 l Pool-Urin normaler Individuen 30 mg, entsprechend einer Konzentration von 0,3 mg/l (9). BRUGER ermittelte einen Bereich von 0,27 bis 3,88 mg/24^h bei einem Mittelwert von 1,7 mg/24^h (11). BURCHELL und MACLAGAN gaben als obere Normgrenzen 0,1 mg/24^h für Männer und 0,84 mg/24^h für Frauen an (12). FRICK und SPITELLER gingen von einem Normalbereich von 0,25 - 0,7 mg/24^h aus (17). VELA und ACEVEDO stellten noch besser fundierte Untersuchungen an: Als obere Normgrenze bei Männern legten sie 1,2 mg/24^h bei zugrundegelegter Normalverteilung fest; für das Frauenkollektiv gelangten sie zu 1,5 mg/24^h als ($\bar{x}+2s$)-Wert bei einer log-normal-Verteilung (3,2,4,5). In einem Kollektiv von Männern mit nicht neoplastischen Erkrankungen lag allerdings ein Drittel der Werte in einem Bereich zwischen diesem oberen Normwert und 2,8 mg/24^h, eine Tatsache, die kurzerhand durch das Vorliegen "latenter Prostatakarzinome" erklärt wird (3).

WALLNER stellte in seiner Dissertation (45) mehrere Kollektive dar. Als obere Normwerte gibt er an:

($\bar{x} + 2s$)-Werte jeweils für freies / Gesamtcholesterin:

Männer: 2,2 / 2,9 mg/24^h (n = 67)

Frauen: 2,3 / 3,1 mg/24^h (n = 70)

Gemischtes internes Krankengut: 2,2 / 2,8 mg/24^h (n = 189)

Diese Werte wurden aus einer jeweils zugrundegelegten log-normal-Verteilung errechnet.

Wie man sieht, liegen diese letztgenannten Normwerte ungefähr doppelt so hoch wie die von ACEVEDO angesetzten. Übereinstimmung ergab sich bei den gegenüber den anderen Kollektiven leicht erhöhten Werten der Frauengruppe.

8.4. Korrelationen des Urincholesterin

Wie schon oben betont, ergab sich aus früheren Arbeiten wie auch aus eingehenden Untersuchungen von WALLNER, daß die Menge des Urincholesterin weder mit dem entsprechenden Serumwert noch mit dem Protein im Urin korreliert (bei Ausschluß einer Proteinurie). Um Verfälschungen der Ergebnisse zu vermeiden, wurden deshalb Proben mit einem Proteingehalt über 100 mg/100 ml sowie solche mit Hämaturie verworfen.

8.5. Kritische Betrachtung der Ergebnisse

8.5.1. Welche Umstände außer Tumorerkrankungen führen zu einer Hypercholesterinurie?

Wie im Ergebnisteil dieser Arbeit zu sehen ist, korreliert die Mehrausscheidung von Cholesterin im Urin in gewissem

Maße mit dem Vorliegen von Tumoren. In diesem Zusammenhang erscheint es wichtig zu wissen, welche physiologischen oder pathologischen Zustände ebenfalls mit einer Mehrausscheidung von Harncholesterin einhergehen können. Autoren früherer Arbeiten (20, 40) berichteten über Fälle mit Hypercholesterinurie bei benignen Erkrankungen z.B. der Leber. ACEVEDO schrieb, er habe keine derartigen Fälle beobachten können (2,3,5,6). Klarheit auf diesem Gebiet erbrachten die Dissertationen von ALBRECHT und WALLNER. ALBRECHT berichtet in seiner Arbeit über die Bedeutung des Urincholesterins in der Gravidität, er habe erhöhte Werte ab der 30. Schwangerschaftswoche mit einem Maximum um die Geburtsphase bei Werten bis $20 \text{ mg}/24^{\text{h}}$ mit einem Rückgang zu Normalwerten in der 2. Woche post partum festgestellt (7). WALLNER, der die Nierenerkrankungen hinsichtlich ihrer Bedeutung für diesen Parameter abklärte, konnte bei glomerulären, tubulären und vaskulären Erkrankungen Werte von $0,5 - 10 \text{ mg}/24^{\text{h}}$, bei chronischer Niereninsuffizienz Werte von $0,5 - 40 \text{ mg}/24^{\text{h}}$ und bei Nierenmißbildungen in einzelnen Fällen Werte bis $100 \text{ mg}/24^{\text{h}}$ beobachten. In dieser Größenordnung lagen auch die Fälle mit Nephrotischem Syndrom in Korrelation zur Proteinurie (45).

8.5.2. Die Cholesterinurie bei malignen Tumoren allgemein
Autoren früherer Arbeiten hatten schon versucht, sich über die Bedeutung der Cholesterinausscheidung im Urin bei Tumoren allgemein ein Bild zu verschaffen. BLOCH/SOBCOTA (37,36) bezeichneten 21 %, BURCHELL/MACLAGAN (12) 10 % ihrer Tumor-

kollektive als pathologisch erhöht. Im Kollektiv von BRUGER ragten 34 % heraus, wobei es sich um Fälle von Brust- und Colon/Rectum-Karzinomen handelte (11). SPITELLER fand erhöhte Werte bei Fällen von M. Hodgkin, Magen-, Darm-, Nieren-, Blasen- und Prostatakarzinom (40).

ACEVEDO unterscheidet bei seinen Untersuchungen streng zwischen Malignomen der endokrinen Organe und ihrer Haupt-Zielorgane einerseits und solchen der Organe ohne tiefere Beziehung zum Endokrinium andererseits. Hohe Trefferquoten bezüglich einer Hypercholesterinurie fand er bei ersterer Gruppe, geringere, bis 21 %, bei letzterer (2,3,4,5,6).

PICKEL konnte hohe Trefferquoten ermitteln für Nieren-(48 - 62 %) Blasen-(53 - 71 %) und Prostata-(45 - 55 %) Karzinome (31).

Um weiteren Aufschluß über die Häufigkeit der Mehrausscheidung von Urincholesterin bei Tumoren allgemein zu erhalten, wurden in einem Globalscreening alle anfallenden Proben von Malignom-Patienten bestimmt.

In der Gruppe der Karzinome fanden sich, wenn man den Parameter "freies Urincholesterin" zugrundelegt, 1 positives von 9 Bronchialkarzinomen, 4 positive bei 21 Karzinomen des Verdauungstrakts ($\hat{=}$ 20 %) sowie 2 positive von 12 Hodenkarzinomen. Gemessen am Parameter "Gesamtcholesterin im Urin" ergaben sich 1 positives von 9 Bronchialkarzinomen, 6 positive von 21 Karzinomen des Verdauungstrakts ($\hat{=}$ 30 %), 1 positives von 4 Schilddrüsenkarzinomen und 5 positive von 12 Hodenkarzinomen ($\hat{=}$ 42 %) (Abb.12,13).

Die Werte der Patienten mit Sarkomen waren bei Messung des ersteren Parameters unauffällig; bei Bestimmung des Gesamtcholesterins hoben sich aber immerhin 30 % durch eine geringe Mehrausscheidung ab.

Bei den Patienten mit Hirntumoren zeigten je 3 von 4 Patienten eine Mehrausscheidung von Urincholesterin.

Die malignen Systemerkrankungen ergaben ein ähnliches Bild (Abb.14). In der Gruppe der Leukosen waren von den Patienten mit CML 3 von 12 im ersten und 5 von 12 im zweiten Parameter, von den Patienten mit AL je 4 von 5 positiv.

Bei der Gruppe "Plasmocytom" fanden sich 4 von 12, bei der Gruppe "M. Waldenström" 1 bzw. 2 Mehrausscheider. Unter den 17 Patienten mit der Diagnose "Malignes Lymphom" waren 2 Mehrausscheider.

Dabei ergaben sich Werte in einer Skala von knapp positiv bis 13 mg/24^h.

Sucht man nach Screening-Tests, so stößt man nur auf die BSG und den Haemocult-Test. Die Blutkörperchensenkungsgeschwindigkeit erweist sich als stark bis sehr stark erhöht, eventuell aber auch als normal, bei Vorliegen maligner Tumoren und Hämoblastosen. Eine Sturzsenkung kann hinweisen auf ein hypernephroides Karzinom oder auf ein Multiples Myelom und einen M. Waldenström. Die BSG stellt jedoch ein derart unspezifisches Zeichen dar, daß sich bei einer geringen Erhöhung das Augenmerk vor allem bei jüngeren Patienten erst in zweiter Linie auf einen tumorösen Prozeß richten wird.

Der Haemoccult-Test erfaßt Blutungen im Magen-Darm-Kanal und dadurch unter anderem Colonkarzinome, aber eben nur solche mit Blutungstendenz.

Ansonsten stehen nur die üblichen klinischen, mehr oder weniger invasiven diagnostischen Methoden zur Verfügung.

Auch der Parameter "Urincholesterin" ist nicht streng spezifisch für eine bestimmte Tumorart oder Gruppe von Tumoren. Die Behauptung von ACEVEDO, die Ausscheidung von Urincholesterin sei erhöht nur bei Tumoren von Organen, die irgendeine Beziehung zu Steroid-produzierenden Drüsen haben, wogegen ein Kollektiv von Patienten mit Tumoren ohne Beziehung zum Endokrinium keine Mehrausscheider aufweise (2,3,4,5,6), konnte deshalb in dieser Untersuchung nicht verifiziert werden.

8.5.3. Die Cholesterinurie speziell bei Tumoren des weiblichen Genitale und der Mamma im Vergleich zu üblichen Screening- und Diagnostikverfahren (dazu Abb. 4 - 11)

8.5.3.1. Die Ovarialtumoren

Das Ovarialkarzinom weist, bedingt durch die geringe Symptomatik im Frühstadium und die vielfältigen klinischen Erscheinungen nach der raschen Ausbreitung, eine gewisse Sonderstellung auf. Zunahme des Leibesumfangs und Druckbeschwerden manifestieren sich erst in weit fortgeschrittenen Fällen.

Als Differentialdiagnosen stehen singuläre Myome, Endometrioseherde, das Darmkarzinom oder Tuberkulose zur Debatte. Erschwert wird die Diagnose besonders auch durch cystische Karzinome, eine Besonderheit des Ovars. Labortechnisch ist eine erhöhte BSG im Gegensatz zum geringen Aussagewert bei anderen Genitalkarzinomen ein häufiges und relativ sicheres Kriterium. Die Problematik des Ovarialkarzinoms liegt also einerseits in der fehlenden Frühsymptomatik, andererseits aber auch in den geringen diagnostischen Möglichkeiten. Neben der Douglaspunktion, die minimale Chancen bietet, stellt die Laparotomie die einzige Möglichkeit einer ausreichenden Beurteilung der Lage dar. Dementsprechend weist das klinische Krankengut auch überwiegend Fälle der Stadien III und IV auf (50 - 80 %) (29,33). In diesem Test waren 4 Fälle in den früheren Stadien I und II, von denen einer jeweils einen deutlich erhöhten Wert aufwies. Von den 10 Fällen der späteren Stadien fielen 4 deutlich pathologisch erhöht aus. Von den 18 Fällen mit benignen Tumoren, die gerade beim Ovar differentialdiagnostisch so bedeutsam sind, war kein einziger auch nur grenzwertig; der Median dieser Gruppe deckt sich sogar mit dem des Normalkollektivs (Abb.3).

8.5.3.2. Die Tumoren des Corpus uteri

Das Corpuskarzinom, eine Erkrankung vorwiegend der älteren Frau, präsentiert sich anders: Es wächst langsam und macht sich im allgemeinen (> 90 %) durch das Alarmsymptom der postklimakterischen vaginalen Blutung bemerkbar. Andere Symptome

spielen nur eine untergeordnete Rolle. Beim geringsten Verdacht auf ein Endometrium-Karzinom erfolgt die weitere Abklärung durch die fraktionierte Curettage, die aber schon einen aufwendigeren und nicht ganz ungefährlichen Eingriff bedeutet.

Andere Methoden, wie das Jet-Washing, sind zu aufwendig, um sich als generelle Früherkennungsuntersuchungen zu empfehlen. In manchen Fällen finden sich jedoch Tumorzellen im vaginalen Smear (32).

Die prätherapeutische klinische Stadieneinteilung nach dem Tastbefund, weltweit gemäß der Empfehlung der F.I.G.O., darf nicht überbewertet werden. Bis zu 70 % des Krankenguts einer Klinik entfallen auf das Stadium I; nur 3 % werden als Stadium IV klassifiziert. Denn einerseits ist aus lymphographischen Untersuchungen bekannt, daß in 20 % der Fälle, die als Stadium I klassifiziert wurden, pelvine Lymphknotenmetastasen vorliegen, andererseits aber sich die Veränderungen, die zur Einstufung in Stadium III führten, in einem Drittel der Fälle als gutartig herausstellten (23,29,32).

Die Cholesterinbestimmung im Urin erbrachte für diesen Karzintyp im Anfangsstadium I 30 % positive Werte, im Stadium II 3 positive Werte von vieren, im Stadium III 40 % positive Werte; beide gemessenen Werte im Spätstadium waren ebenfalls positiv. Bei den Fällen mit der Diagnose "Uterus myomatosus" und solchen mit benignen Veränderungen des Endometrium lagen dagegen alle Werte im Normbereich; die Medianwerte rangierten

sogar unter denen des Vergleichskollektivs. Das Carzinoma in situ des Endometrium konnte leider nicht untersucht werden, da es klinisch auch kaum faßbar ist. Jedoch waren Fälle von glandulär-cystischer und adenomatöser Hyperplasie in dieser Gruppe vertreten, Erkrankungen, die, vor allem bei Rezidivneigung, im Verlauf von 10 Jahren mit einer wenn auch nur geringen Wahrscheinlichkeit ($< 10\%$) in ein klinisches Karzinom übergehen können (23) (Abb. 5, 6).

Ähnlich wie die Stadieneinteilung ist auch die histologische Gradierung nicht absolut festlegbar. Sehr häufig besteht eine Kombination verschiedener histologischer Reifegrade. Deshalb wurde versucht, nach dem vorherrschenden Zellbild zu klassifizieren. Aus der Abbildung 7 könnte man vielleicht annehmen, daß die Urincholesterinwerte mit abnehmender Reife des Tumors nach unten tendieren, ablesbar in etwa an den Medianwerten.

8.5.3.3. Die Tumoren des Collum uteri

Es gibt wohl sonst keinen Tumor, der aufgrund seiner Lokalisation in vergleichbarer Weise sowohl erforscht als auch der Früherkennung zugänglich gemacht werden konnte wie das Cervixkarzinom. So richtet sich denn auch die gynäkologische Vorsorge hauptsächlich gegen dieses Karzinom. An diagnostischen Methoden stehen die Kolposkopie mit einer Treffsicherheit von 80% und die Cytologie des Cervix- und Portio-Smears mit einer Treffsicherheit von fast 90% ganz im Vordergrund,

die, zusammen ausgeführt, eine beachtliche Trefferquote von 98 % ergeben und damit konkurrenzlos dastehen. Die Abnahme des Smears aus dem hinteren Scheidengewölbe konnte sich wegen der geringeren Sicherheit von 20 - 60 % dagegen nicht durchsetzen. Allerdings liegen diesen Zahlen die besten Resultate aus der Literatur zugrunde, die eine optimale Abnahmetechnik und Präparation des Smear und einen geübten Begutachter voraussetzen. Die Häufigkeit falsch negativer Befunde beläuft sich je nach Autor auf 1 - 30 % bei einem Querschnitt von der Dysplasie bis zum klinisch manifesten Karzinom. Vorteilhaft ist vor allem, daß die Cytologie sämtliche zweifelhaften Stadien wie die Dysplasie und Oberflächenkarzinome erfaßt. Denn die Dysplasie weist in ca. 6 % pro Jahr eine Progression zum Carcinoma in situ und dieses wiederum in ca. 40 % pro Jahr eine Progression zum invasiven Karzinom auf, d.h. man muß sie als fakultative Präcancerose auffassen (22,23,39). Bei den 3 untersuchten Fällen von Dysplasie waren 2 Mehrausscheider an Urincholesterin, bei den 6 untersuchten Patientinnen mit Carcinoma in situ der Cervix ebenso 2. Die klinisch manifesten Karzinome der Cervix dagegen bieten der klinischen Diagnostik keine besonderen Probleme. Meist fallen sie durch postcoitale Blutungen auf und lassen sich durch Anamnese, Spekulumuntersuchung und Palpation schnell diagnostizieren. Die Patientinnen, die hier untersucht wurden, zeigen im Stadium I in 43 % und im Stadium II in 44 % pathologische Werte für das Gesamt-Urincholesterin; im Stadium III wuchs die Trefferquote auf 72 %;

alle 3 Fälle des Stadium IV zeigten ebenfalls erhöhte Werte. Die Zahlen für das freie Cholesterin liegen durchweg geringfügig niedriger (Abb.8,9). Diese Betrachtung macht klar, daß die eingeführte Screening-Diagnostik des Cervix-Karzinoms konkurrenzlos, weil kaum noch zu verbessern ist. Sie erfordert natürlich einen jährlichen Besuch der Frau beim Gynäkologen. Da die Untersuchung für die Frau nicht gerade erfreulich ist, nehmen daran noch immer weniger als 50 % der Berechtigten teil.

Die Aufschlüsselung der ermittelten Urincholesterinwerte nach dem Differenzierungsgrad des Tumors erbrachte ein ähnliches Ergebnis wie beim Endometrium-Karzinom: Mit sinkendem Reifungsgrad tendieren die Werte nach abwärts, die Medianwerte nehmen ab und die Zahl der pathologischen Werte nimmt ebenfalls ab. Diese Befunde erwecken den Eindruck, es gäbe vielleicht eine Beziehung zwischen dem Reifegrad der Tumoren und Mehrausscheidung an Urincholesterin (Abb.10).

8.5.3.4. Die Tumoren der Mamma (Abb.11)

Das Mammakarzinom verhält sich, wie früher schon erwähnt, ganz eigenartig. Filiae oder generalisierte Metastasierung ohne erfaßbares Muttergewächs sind in der Literatur ebenso beschrieben wie fehlende Metastasierung bei ausgedehnten Primärtumoren. Im Verlauf wurden sogar schon Remissionen von 5 - 20 Jahren beobachtet. Eine histologische Aussage wird oft dadurch erschwert, daß sich im selben Tumor unter-

schiedliche Anteile finden (29,30,39). Für die Stadieneinteilung gab es im Lauf der Zeit viele Vorschläge. Die heute praktizierte Einteilung nach dem TNM-Schema wird meist in Stadiengruppen, wie auch in dieser Arbeit, zusammengefaßt, da sie sogar für Statistiken mit großer Fallzahl zu sehr differenziert. Die meisten Patientinnen weisen schon Metastasen auf, wenn sie zur Untersuchung gelangen. Heilungsaussichten bestehen nur, solange sich der Tumor auf die Brust und die regionären Axillarlymphknoten beschränkt. Demgemäß wurden die Tumoren in der Abb. 11 in 2 Gruppen eingeteilt: Stadium I - III und Stadium IV. Die erste Gruppe wies 33 %, die zweite 36 % erhöhter Werte auf. Die ebenso untersuchte Gruppe benigner Veränderungen der Mamma, die aber auch Krankheitsbilder wie die proliferierende Mastopathie, die als fakultative Präcancerose gilt, einschloß, enthielt keine Mehrausscheider; die Medianwerte deckten sich mit denen des Kontrollkollektivs. Das Fehlen von falsch positiven Resultaten unterscheidet die Urincholesterinbestimmung von vielen anderen Verfahren in der Diagnostik der Mammatumoren. Die Mikrocalcifikationen, nach denen bei mammografischen Aufnahmen gefahndet wird, erweisen sich in 80 % der Fälle als Ausdruck benigner Erkrankungen; nur in 20 % steckt ein Karzinom dahinter (30,35). Ebenso werden sowohl bei benignen und malignen Erkrankungen der weiblichen Brust abnorme Thermogramme gefunden; eine Differenzierung ist nicht möglich (30). Mit der Ductografie ermittelt man ebenso nur bei 20 % ein Karzinom als Ursache einer blutigen Mamillensekretion (30).

In einer großen Studie stellten sich 30 % der cytologisch als positiv oder verdächtig eingestuften Fälle histologisch als Karzinom heraus (24). Bei palpablen Knoten steht noch die Aspirationsbiopsie zur Diskussion. Sie bringt, abhängig von der Übung des Cytologen, bis zu 44 % positive bei 4 % falsch positiven Ergebnissen (16).

Wie man aus diesen Daten ersieht, haben alle hier angewandten Methoden ihre falsch positiven und falsch negativen Ergebnisse. In der Klinik wird deshalb heute allgemein die Tripeldiagnostik: Klinik / Mammografie / Cytologie betrieben. Von den so als Karzinom-verdächtig eingestuften Tumoren erweisen sich dann 90 % als richtig erkannt (34).

8.5.4. Vergleich der eigenen Ergebnisse mit der Literatur

Auf das Problem der oberen Normgrenze wurde bereits oben näher eingegangen. Außer Einzelbeobachtungen in früheren Arbeiten kann man für Vergleiche nur die Berichte von ACEVEDO heranziehen. Dieser Autor geht von einer wesentlich niedriger angesetzten oberen Normgrenze aus; ansonsten liegen alle hier ermittelten Werte in einem vergleichbaren Bereich. Da er Tumorgruppen global ohne Einteilung beschreibt, soll hier ebenso vorgegangen werden.

Für das Ovarialkarzinom liegen die Angaben bei 94 % Trefferquote, wobei die meisten Werte knapp über der Normgrenze von $1,5 \text{ mg}/24^{\text{h}}$ bis $3,5 \text{ mg}/24^{\text{h}}$ liegen (6). Die uterinen Karzinome waren zu 95 % beim Cervixkarzinom inclusive Carcinoma in situ und zu 93 % beim Endometriumkarzinom mit einer Mehrausschei-

derung von Harncholesterin verknüpft. Die Werte bewegten sich in einem Bereich bis $25 \text{ mg}/24^{\text{h}}$ bzw. bis $10 \text{ mg}/24^{\text{h}}$ (2,5).

In seinem Kollektiv der Mammakarzinom-Patientinnen befanden sich 80 % Mehrausscheider bei Werten bis $65 \text{ mg}/24^{\text{h}}$. Auch die Angaben über die falsch positiven Werte differieren zum Teil von denen dieser Untersuchung. Während eine Vergleichsgruppe neoplastischer und nicht-neoplastischer Erkrankungen des Uterus und der Ovarien unauffällig war, ergaben sich in 16 % der nicht-karzinomatösen Erkrankungen der Brust pathologische Werte, ein Befund, der nicht verifiziert werden konnte (4). Aus einem Vergleich der Wertetabellen ergibt sich, daß die wesentlich höhere Trefferquote hauptsächlich auf der tiefer angesetzten oberen Normgrenze beruht.

Derselbe Autor vertritt auch die Meinung, daß die Harncholesterinausscheidung weder vom Stadium noch vom Differenzierungsgrad des Tumors abhängt, ohne dementsprechende Beweise vorzulegen (2,5,6). Aus den hier vorliegenden Grafiken kann man dagegen den Eindruck gewinnen, als tendierten die Werte mit steigendem Stadium bzw. höherem Differenzierungsgrad nach oben. Für den Einzelfall bleibt dies jedoch ohne jede Bedeutung.

8.5.5. Vergleich der Urincholesterin-Bestimmung mit anderen humoralen Tests

Um die Bestimmung des Urincholesterins in seiner Wertigkeit weiter einzustufen, sollen ihre Ergebnisse mit denen anderer humoraler, meist Serum-Tests, verglichen werden.

Aus der ungeheuren Vielzahl immunologischer Antigen-Tests konnten sich in geringem Umfang nur die Bestimmung des Karzinoembryonalen Antigens (CEA), des α -Fetoproteins und des Human Chorionic Gonadotropin (HCG) durchsetzen. Der Wert dieser Parameter wird jedoch durch die allen diesen Tests eigene enorm hohe Rate falsch positiver Befunde bei nicht malignen Zuständen oder Erkrankungen eingeschränkt. Eine CEA-Erhöhung findet sich außer in graviditate bei 11 % gesunder Frauen, bei 20 % der Raucher, in über 50 % der Fälle von Lungenemphysem, bei 65 % der Alkoholiker, daneben in 25 - 50 % bei unterschiedlichen nicht malignen Krankheitsbildern(8,27,28). Die Bestimmung des HCG ergibt in 5 - 17 % der Fälle falsch positive Werte für nicht maligne Erkrankungen (42). Demgegenüber fanden sich bei der Bestimmung des Urincholesterin keine derartigen Befunde, die sich nach Abklärung nicht in eine der im Ergebnisteil beschriebenen Gruppen maligner Krankheitsbilder hätten einordnen lassen.

Nun zu den Trefferquoten dieser Teste: Die Domäne der CEA-Bestimmung liegt auf dem Gebiet der Colon-/Rectum-Karzinome mit einer Trefferquote von 70 % und sonstiger gastrointestinaler Karzinome mit einer Trefferquote bis zu 53 % (27,28). Von den hier näher untersuchten Tumorguppen ergaben sich aus einer Sammelstatistik positive Raten von 31 % für das Ovarialkarzinom, 54 % für das Mammarkarzinom, 43 % für Collum/Corpus uteri-Karzinome und 35 % für Leukämien (8,27).

Die Bestimmung des Harncholesterins ergab entsprechende Raten von 35 %, 36 % und 45 % (Corpus-Ca.) / 54 % (Cervix-Ca.). Benigne Ovarialtumoren zeigten bei der CEA-Bestimmung in 27 % erhöhte Werte, bei der Urincholesterinbestimmung keine derartigen Befunde. Um die hohe Rate falsch positiver Ergebnisse des CEA-Tests bei nicht malignen Zuständen zu eliminieren, müßte man die Normgrenze bei 20 ng/ml statt bei 2,5 ng/ml ansetzen, wobei sich die Trefferquote drastisch auf 5 - 30 % je nach Tumorart reduziert.

Die Domäne der HCG-Bestimmung liegt auf dem Gebiet der Trophoblast-Tumoren (Blasenmole und Chorionkarzinom) mit 100 % Trefferquote. Daneben weisen 60 % der Patienten mit Tumoren der Testes und 35 % der Patientinnen mit Ovarialkarzinom erhöhte Serumspiegel auf (10,42). Bei Patienten mit gastrointestinalen Tumoren, Mammakarzinom und Malignomen des hämopoetischen Systems werden in 2,7 - 17 % Werte oberhalb der Normgrenze beobachtet, die sich damit nicht vom Kontrollkollektiv mit nicht-malignen Erkrankungen unterscheiden (36,42). Die Messung des Urin-HCG ergibt noch geringere Befunde.

Bei Bestimmung des α_1 -Fetoprotein findet man je nach Empfindlichkeit der Methode beim primären Leberkarzinom erhöhte Werte in 55 - 95 % und bei Teratoblastomen in 25 - 70 % der Fälle. Gastrointestinale Tumorer führen in 20 - 30 % zu positiven Befunden (26).

Früher wurde bereits vorgeschlagen, mehrere Screening-Tests zu kombinieren. TORMEY errechnete z.B. für das metastasierende Mammakarzinom 97 % Trefferquote bei Anwendung von 4 humoralen Tests (41). Allerdings summieren sich die falsch positiven Ergebnisse ebenso, so daß daraus eine untragbare Unsicherheit resultiert.

8.6. Überlegungen zur Bedeutung des Parameters Urincholesterin

Nachdem nun der Parameter Urincholesterin den etablierten Methoden der Diagnostik und den sonstigen humoralen Screening-Tests gegenübergestellt wurde, könnte man nach Zusammenstellung der Fakten ein vorsichtig wertendes Urteil abgeben. Es sei noch einmal daran erinnert, daß die untersuchten Urinproben weder Proteinurie noch Hämaturie aufwiesen.

Eine Mehrausscheidung an Urincholesterin wurde beobachtet bei verschiedenen Nierenerkrankungen, in der Schwangerschaft und bei malignen Tumoren. Beim Nephrotischen Syndrom beruht die Hypercholesterinurie, nachweisbar durch Urinelektrophorese, auf einer glomerulären Filtration von Plasma-Lipoproteinen. Dagegen können über den normalen Ausscheidungsmechanismus des Urincholesterins noch keine Aussagen gemacht werden.

Bei den hier untersuchten Tumoren fanden sich keine falsch positiven Werte für benigne Erkrankungen; dagegen wurden pathologische Befunde unterschiedlicher Ausmaße bei malignen Erkrankungen in etwa ähnlichen Prozentsätzen wie bei anderen humoralen Testverfahren angetroffen. Eine enge Beziehung zwi-

schen Art, Stadium und histologischer Differenzierung und der Mehrausscheidung von Harncholesterin scheint dabei nicht zu bestehen, obwohl vielleicht gewisse Vermutungen, wie oben erwähnt, naheliegen. Eine Tatsache verdient festgehalten zu werden: Ein erhöhter Urincholesterinwert stellt aufgrund der so gut wie nie falsch positiven Befunde ein unspezifisches Alarmsymptom dar, da er stets mit einem pathologischen Zustand, d.h. meist mit einem Malignom einhergeht.

Wie ist nun bei Vorliegen eines erhöhten Urincholesterinwertes vorzugehen?

Urine mit Proteinurie oder Hämaturie, festzustellen durch Teststreifen, scheiden ohnehin aus. Zunächst sollte, vor allem bei grenzwertigen Befunden, der Wert kurzfristig kontrolliert werden, um Fehler bei der 24^h-Sammlung und bei der Bestimmung auszuschließen.

8.7. Ausblick

8.7.1. Weitere notwendige Untersuchungen

Da größere klinische Erfahrungen mit der Cholesterinbestimmung im Urin bei Karzinomen fehlen, sollten noch weitere Untersuchungen anschließen, die folgende noch offene Fragen klären:

- Bei wieviel % der Patienten mit erhöhter Urincholesterinausscheidung ist ein Malignom zu verifizieren?
- Wie verhält sich der Parameter bei der Verlaufsbeobachtung von Malignomen?
- Welchen Nutzen könnte der Parameter speziell in der Frühdiagnostik von Tumoren haben?

8.7.2. Herkunft des Urincholesterin

Beziehung des Cholesterin zu Tumoren

Der Harn gesunder Menschen enthält eine gewisse Grundmenge Cholesterin. Das hydrophobe Molekül liegt im Urin, wie eigene und in der Literatur beschriebene Versuche ergaben, in einer Protein-Komplex-Bindung vor. Bezüglich der Herkunft dieses Lipids lassen sich bis jetzt nur Spekulationen anstellen. Erinnert sei an die ubiquitäre Rolle des Cholesterins im Organismus. Daneben ist seit langem die besondere Bedeutung der Lipide und insbesondere des Cholesterins für die Tumorchemie bekannt. DAY et al. wiesen bei Untersuchungen über Tumor-Sterole in Tumoren zwischen 1 und 52 % Lipidgehalt nach, wobei sie neben anderen Sterolen "Cholesterin bei allen Tumoren in großen Mengen" fanden (15). Andere Studien haben gezeigt, daß Tumoren eine erhöhte Syntheserate an β B-Hydroxysterolen und insbesondere an Cholesterol aufweisen. Beachtung verdient in diesem Zusammenhang der Bericht von HILF et al., die in infiltrierenden Mammakarzinomen einen 2-3fach erhöhten Gehalt an Cholesterin im Vergleich zu normalem Brustgewebe fanden (21). CHEN berichtete, daß Leukämie-Zellen eine wesentlich gesteigerte Syntheserate an β B-Hydroxysterolen aufweisen (6). Da Cholesterin eine nicht unbedeutende Rolle im Aufbau biologischer Membranen bildet, erscheint es nicht abwegig, eine erhöhte Synthese dieses Lipids mit dem Wachstum von Gewebe in Verbindung zu bringen. In diesem Sinn könnte man über von Tumoren gebildete niedermolekulare und deshalb glomerulär filtrierbare Lipo-

proteine spekulieren. Entsprechend den Verhältnissen beim CEA wäre zu fordern, daß diese Fähigkeit mancher Tumoren weder von ihrer anatomischen Größe noch von ihrer histologischen Differenzierung abhängt.

9. ZUSAMMENFASSUNG

Seit langer Zeit wird eine vermehrte Ausscheidung von Cholesterin im Urin mit malignen Erkrankungen in Zusammenhang gebracht. In neuerer Zeit wurde nun die Behauptung aufgestellt, eine Mehrausscheidung liege nur bei Malignomen endokriner Organe bzw. ihrer direkten Zielorgane vor. In diesen Untersuchungen wurden weder klinische Stadien noch histologische Differenzierung der Tumoren berücksichtigt.

Unklar war ferner, ob die Bestimmung des freien oder des Gesamtcholesterin eine höhere Wertigkeit hat.

In der vorliegenden Arbeit wurden nun verschiedene Arten von Tumoren, mit Ausnahme der des Urogenitaltrakts, ohne Bezug auf klinisches Stadium und histologische Qualität systematisch untersucht. Ferner wurden die Befunde bei Patientinnen mit Tumoren des weiblichen Genitale und der Mamma genauer dargestellt. Bestimmt wurde zugleich freies und, nach alkalischer Hydrolyse, Gesamtcholesterin im Urin mit einer gaschromatografischen Methode.

Die Urincholesterinwerte für ein Kollektiv von Patienten mit nicht-malignen internen Erkrankungen bzw. für ein Kollektiv klinisch gesunder Frauen lagen in einem 2s-Bereich von $0,18 - 2,28 \text{ mg}/24^{\text{h}}$ bzw. $0,28 - 2,3 \text{ mg}/24^{\text{h}}$ für freies und von $0,22 - 2,64 \text{ mg}/24^{\text{h}}$ bzw. $0,3 - 3,1 \text{ mg}/24^{\text{h}}$ für Gesamtcholesterin.

Bei Patientinnen mit Ovarialkarzinom fanden sich in 25 - 40 % erhöhte Urincholesterinwerte. Patientinnen mit Endometrium-Karzinom zeigten in 31 - 100 %, Patientinnen mit Cervix-Karzinom in 33 - 100 % erhöhte Urincholesterinausscheidung. In der Gruppe der Mammakarzinome lagen 33 - 37 % oberhalb der Normgrenze. Eine deutliche Abhängigkeit zwischen klinischem Stadium bzw. histologischer Qualität und dem Grad der Mehrausscheidung fiel dabei nicht auf. Bei den gegenübergestellten benignen Tumoren oder Veränderungen der entsprechenden Organe ergab sich kein pathologischer Wert.

Die Bestimmung des Parameters bei Patienten mit sonstigen Malignomen bzw. malignen Systemerkrankungen führte zu unterschiedlichen Trefferquoten von 0 - 75 %.

Eine Spezifität kann man dem untersuchten Parameter nicht zusprechen. Die Bestimmung des Gesamtcholesterins erbrachte in bis zu 15 % häufiger einen Wert oberhalb der Normgrenze als die des freien Cholesterins im Urin.

10. LITERATURVERZEICHNIS

1. Acevedo H.F., E.A. Campbell:
Urinary Cholesterol III: Its Excretion as a Protein-Bound Complex.
Steroids 16: 569-577, 1970
2. Acevedo H.F., E.A. Campbell, et al.:
Urinary Cholesterol IV: Its Excretion in Women with Neoplasms of the Genital System.
Obstetrics and Gynecology 37: 425-436, 1971
3. Acevedo H.F., E.A. Campbell, et al.:
Urinary Cholesterol V: Its Excretion in Men with Testicular and Prostatic Neoplasms.
Cancer 32: 196-205, 1973
4. Acevedo H.F., E.A. Campbell, et al.:
Urinary Cholesterol VI: Its Excretion in Women with Inoperable Inflammatory Carcinoma of the Breast.
Cancer 34: 1727-1736, 1974
5. Acevedo H.F., E.A. Campbell, et al.:
Urinary Cholesterol VII: The Significance of the Excretion of Nonesterified Cholesterol in Patients with Uterine Carcinomas.
Cancer 36: 1459-1469, 1975
6. Acevedo H.F., E.A. Campbell, et al.:
Urinary Cholesterol VIII: Its Excretion in Women with Ovarian Neoplasms.
Cancer 37: 2847-2857, 1976
7. Albrecht M.:
Cholesterin im Urin in Schwangerschaft und Puerperium
Inauguraldissertation der Med. Fakultät der Univ. München
(in Vorbereitung)

8. Anger H., Gleissenberger U.:
Karcinoembryonales Antigen (CEA) bei Patientinnen mit
Genitaltumoren.
Geburtshilfe und Frauenheilkunde 37: 604-608, 1977
9. Bloch E., Sobotka H.:
Urinary Cholesterol in Cancer.
J. Biol. Chem. 124: 567-572, 1938
10. Braunstein G.D.:
Ectopic Production of HCG by Neoplasms.
Annals of Internal Medicine 78: 39-45, 1973
11. Bruger M.:
Cholesterol Content of the Urine in Patients with Cancer.
Arch. Intern. Med. 72: 108-114, 1943
12. Burchell M.M., J.H.O. Earle, N.F. MacLagan:
Urinary Cholesterol in Cancer: Urinary Cholesterol Excretion in Cancer Patients and Control Subjects.
Brit. J. Cancer 3: 42, 1949
13. Butenandt A., H. Dannenbaum:
Über die Ausscheidung von Cholesterin im Harn.
Z. f. Physiol. Chemie 248: 151-154, 1937
14. Cochran J. et al.:
The Endocrinology of HCG Secreting Testicular Neoplasms:
New Methods in Diagnosis
J. Clin. Endocrinology 36, 834-839, 1976
15. Day E., G. Malcom, M. Beeler:
Tumor Sterols
Metabolism, Vol 18, No. 8: 646-651, 1969
16. Franzén S., J. Zajicek:
Aspiration Biopsy in Diagnosis of Palpable Lesions of
the Breast.
Acta Radiologica 7: 241-262, 1968

17. Frick J., G. Spitteller:
Cholesterin und Harntrakterkrankungen.
Zschr. f. Urologie 53: 833-838, 1968
18. Gardner J.A., H. Gainsborough:
Cholesterol Secretion in the Urine. Part I.
Biochem. Journal 19: 667-671, 1925
19. Gérard E.:
Sur la présence de traces de cholestérine dans les
urines normales.
Journ. Pharm. et Chim. 7: 998-1000, 1911
20. Grunke W.:
Über die Ausscheidung des Cholesterins im Harn.
Biochem. Zschr. 132: 543-555, 1922
21. Hilf R., H. Goldenberg, R. Orlando, F. Archer:
Some Biochemical Characteristics of Human Breast
Cancer and Nonmalignant Breast Lesions.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 132: 613-617, 1969
22. Hillemans H.G., H. Naujoks, A. Castano-Almendral,
O. Käser, L. Heller:
Das Collumcarcinom
Der Gynäkologe 1: 150-206, 1969
23. Holzmann K., K. Lohe:
Krebs: Diagnose und Therapie
Hrsg.: K. Weidner; Hippokrates-Verlag, Stuttgart
24. Kattner W.:
Mammasekretcytologie - Ergebnisse eines Einsendelabors
Geburtshilfe und Frauenheilkunde 36, 1976
25. Kern G.:
Gynäkologie (Ein kurzgefaßtes Lehrbuch)
Thieme-Verlag, Stuttgart 1970

26. Lamerz R., A. Fateh-Moghadam:
Carcinofetale Antigene: I. Alpha-Fetoprotein.
Klin. Wochenschrift 53: 147-169, 1975
27. Lamerz R., A. Fateh-Moghadam:
Carcinofetale Antigene: II. Carcinoembryonales Antigen (CEA)
Klin. Wochenschrift 53: 193-203, 1975
28. Lehmann F.-G.:
Serologische Tumordiagnostik.
Internist 16: 214-222, 1975
29. Maass H., G. Trams, H. Sachs, A. Castano-Almendral,
O. Käser, E. Halberstadt, G. Martz:
Gynäkologische Carcinome: Mammacarcinom, Ovarialcarcinom,
Endometrium-Carcinom.
Der Gynäkologe 3: 2-44, 1970
30. Montague A.C.W., G.L. Stonesifer, E.F. Lewison:
Breast Cancer: Progress in Clinical and Biological Research.
Vol. 12: 130-154, 223-246, 251-282, 283-302, 313-320,
A.R. Liss, Inc.; 1977
31. Pickel A.:
Die Bedeutung des Urincholesterins in der Diagnostik von
Tumoren der Nieren, der ableitenden Harnwege und der Prostata.
Inauguraldissertation der Med. Fak. der Univ. München 1979
32. Reist A.:
Das Corpuscarcinom.
Fortschritte der Geburtshilfe und Gynäkologie, Vol. 49
S. Karger, Zürich; 1974
33. Reist A.:
Das Ovarialcarcinom.
Fortschritte der Geburtshilfe und Gynäkologie, Vol. 53.
S. Karger, Zürich; 1974

34. Ruppin E., L. Kindermann et al.:
Die Tripeldiagnostik und die Probeexcision in der
Mammadiagnostik.
Geburtshilfe und Frauenheilkunde 36, 1976
35. Rummel W., G. Kindermann et al.:
Mikrokalk in der Mammografie: operative Abklärung
und histologische Befunde.
Geburtshilfe und Frauenheilkunde 36, 1976
36. Sheth N.A.:
Ectopic Production of HCG by Human Breast Tumors.
Brit. Journ. of Cancer 30: 566-570, 1974
37. Sobotka H., E. Bloch:
Urine Extractives in Cancer.
Amer. Journ. of Cancer 35: 50-54, 1939
38. Sobotka H., E. Bloch, A.B. Rosenbloom:
Urinary Cholesterol in Cancer II.
Amer. Journ. of Cancer 38: 253, 1940
39. Soost H.J., D. Ziffer et al.:
Krebsvorsorge und Krebsfrüherkennung.
Urban & Schwarzenberg, 1974
40. Spitteller-Friedmann M., G. Spitteller, H. Spitteller,
J. Frick:
Zur Frage der Ausscheidung von Cholesterin im Harn
bei verschiedenen Tumorerkrankungen.
Österr. Zschr. f. Krebsforschung 5: 25-35, 1971
41. Tormey D.:
Biological Markers in Breast Carcinoma.
Cancer 35: 1095-1100, 1975
42. Vaitukaitis J.L.:
HCG as a Tumor Marker.
Annals of Clinical and Laboratory Science.
Vol. 4: 276-280, 1974

43. Vela B.A., H.F. Acevedo:
Urinary Cholesterol 1: Isolation and Characterization
of "Free" Cholesterol in Normal and Pregnant Subjects.
J. Clin. Endocrinology 29: 1251-1258, 1969
44. Vela B.A., H.F. Acevedo:
Determination of Urinary Cholesterol by Gas-Liquid
Chromatography.
Steroids 14: 499-517, 1969
45. Wallner J.:
Cholesterin im Urin bei Erkrankungen der Niere
Inauguraldissertation der Med. Fak. der Univ. München, 1979

Für die Stellung des Themas sowie für die vielen Rat-
schläge zur Bearbeitung und bei der Fertigung dieser
Arbeit möchte ich Herrn Prof. Dr. H.J. Karl meinen
verbindlichsten Dank sagen. Ebenso gilt mein Dank
Herrn Dr. D. Jüngst, der mir als Betreuer zur Seite
stand und für meine Fragen und Probleme stets ein
offenes Ohr fand.

Bedanken möchte ich mich auch bei Herrn Dr. Jakob,
der mir bei der Erstellung der Massenspektrogramme
behilflich war.

Ferner geht mein Dank auch an Herrn Prof. Dr. K. Richter
sowie Herrn Dr. Eiermann, die durch ihre Zustimmung und
Mithilfe die Beschaffung von Proben ermöglichten.
Nicht zuletzt soll den Schwestern und Pflegern, die mit
der Probensammlung zu tun hatten, gedankt sein.

L E B E N S L A U F

Ich wurde am 15. Juni 1954 als Sohn des Buchdruckereibesitzers Paul Stadler und seiner Gattin Maria, geb. Müller, in München geboren.

Nach dem Besuch der Grundschule in München von 1960 - 1964 trat ich an das neusprachliche Oskar-v.-Miller-Gymnasium im München über, an dem ich auch 1973 mein Abitur ablegte.

Mit dem Wintersemester 1973/74 begann ich an der Ludwig-Maximilians-Universität in München das Studium der Humanmedizin. Im August 1975 legte ich die Ärztliche Vorprüfung, im August 1976 den ersten Abschnitt, im August 1978 den zweiten Abschnitt der Ärztlichen Prüfung mit Erfolg ab.

Im darauf folgenden Jahr der praktischen Ausbildung im Rahmen des Studiums vom 15. Oktober 1978 bis zum 22. September 1979 war ich je ein Tertial an der II. Medizinischen Klinik im Klinikum Großhadern und der II. Frauenklinik der Universität München sowie am Hauptkrankenhaus des Krankenhauszweckverbandes Augsburg tätig.

Im Oktober/November 1979 legte ich den dritten Abschnitt der Ärztlichen Prüfung mit Erfolg ab.

Die Approbation als Arzt wurde mir am 3. Dezember 1979 erteilt.

Seit 7. Januar 1980 leiste ich meine Wehrpflicht als Stabsarzt bei der Bundeswehr in München.

Die hier vorliegende Promotionsarbeit wurde im März 1976 begonnen und erstreckte sich über einen Zeitraum von zwei Jahren.

